

Aus dem Institut für Pharmakognosie
der freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. Rudolf Hänsel

Lipophile Flavone in einigen Citrus-
und Matricaria - Arten:
Lokalisation und taxonomische Bedeutung

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der
Freien Universität Berlin

1960

vorgelegt von
Klaus Walther
aus Berlin

Aus dem Institut für Pharmakognosie
der freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. Rudolf Hänsel

Lipophile Flavone in einigen Citrus-
und Matricaria - Arten:
Lokalisation und taxonomische Bedeutung

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Klaus Walther
aus Berlin



Referent: Professor Dr. R. Hänsel

Korreferent: Professor Dr. G. Schenck

Tag der mündlichen Prüfung:

3. FEB. 1968

Tag der Promotion:

11. Mrz. 1968

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin auf Anregung und unter Leitung von Herrn Professor Dr. Rudolf Hänsel durchgeführt.

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. R. Hänsel, möchte ich für seine fördernde Unterstützung, sein großes Interesse am Fortgang meiner Arbeit und für seine wertvollen Ratschläge herzlich danken.

Meinen aufrichtigen Dank möchte ich auch Herrn Dr. H. Rimpler, wissenschaftlicher Assistent am Institut für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin und Herrn Dr. Ch. Leuckert, Akademischer Rat am Institut für Systematische Botanik und Pflanzengeographie, aussprechen, die mir stets mit Rat und Auskünften behilflich waren.

Ich möchte nicht zuletzt auch allen Mitarbeitern für die bereitwillige Erfüllung meiner Wünsche herzlich danken.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft, Bad Godesberg, danke ich für die Förderung der vorliegenden Arbeit.

Inhaltsverzeichnis

=====

	Seite
I Einleitung und Problemstellung	11
II Botanische Beschreibung der untersuchten Pflanzenarten	
1. Citrusarten:	
Citrus sinensis (L.) OSBECK; Citrus paradisi MACF.; Citrus reticulata BLANCO; Citrus re- ticulata-Hybride, Clementine; Citrus limon BURM.	13
2. Matricaria chamomilla L.	15
III Bisherige Kenntnisse über das Vorkommen von Flavonen in den untersuchten Pflanzenarten:	
1. Die Flavone in den Citrusarten:	
1.1 Citrus sinensis	17
1.2 Citrus paradisi	18
1.3 Citrus reticulata	19
1.4 Citrus reticulata - Clementine	19
1.5 Citrus limon	19
2. Die Flavone in Matricaria chamomilla	20
IV Über pflanzliche Exkretion	23
1. Allgemeines	23
2. Glandulotrope Exkretion	27
2.1 Die Physiologie der glandulotropen Exkretion	31
3. Anhang: Das Vorkommen lipophiler Flavone im Pflanzenreich (Tabelle)	35
V Eigene Untersuchungen	39
A Hauptteil	39
1. Die lipophilen Flavone in den Früchten der Citrusarten	41

	Seite
1.1 Entnahme des ätherischen Öls	41
1.2 Polyamid - DC. lipophiler Flavone	41
1.3 Ergebnisse der chromatographischen und uv - spektrophotometrischen Untersuchung der ätherischen Citrusöle	42
1.3.1 Isolierung von 3.3'.4'.5.6.7.8 - Hepta- methoxyflavon, Nobiletin und Tangeretin ..	43
2. Das lipophile Flavon F_K in Matricaria chamomilla	47
2.1 Isolierung des Flavons F_K	47
2.1.1 Abschätzung des F_K - Gehalts in der Droge	48
2.2 Identifizierung von F_K	49
2.2.1 Charakterisierung durch analytische Methoden	49
2.2.2 Synthese des 4'.5-Dihydroxy-3.3'.6.7- tetramethoxyflavon und Vergleich mit der natürlichen Verbindung F_K	50
2.3 Die Lokalisation von F_K und hydrophiler Flavone in Matricaria chamomilla	58
2.4 Untersuchung von Flores Chamomillae ver- schiedener Herkunft auf das Vorkommen von F_K	60
2.5 Untersuchung verwandter Arten auf das Vor- kommen von F_K	60
 B Experimenteller Teil	63
Allgemeines	65
1. Die lipophilen Flavone in den Früchten der Citrusarten	66
1.1 Herkunft der Citrusfrüchte	66
1.2 Gewinnung und Chromatographie der ätherischen Öle	66

	Seite
1.3 Trennung und UV - Spektren der lipophilen Flavone	66
1.4 Isolierung von 3.3'.4'.5.6.7.8 - Heptamethoxyflavon, Nobiletin und Tangeretin	67
1.5 Herstellung der Methanolextrakte der Fruchtteile von Citrus sinensis	73
1.5.1 Chromatographie der Methanolextrakte und Nachweisreaktionen der Flavonoide	73
2. Das lipophile Flavon F_K in Matricaria chamomilla	74
2.1 Isolierung des Flavons F_K	74
2.1.1 Einige Reaktionen von F_K	75
2.1.2 Abschätzung des F_K - Gehalts in der Droge	76
2.2 Identifizierung der Verbindung F_K	77
2.2.1 Alkalisplaltung	77
2.2.2 Methylierung	78
2.2.3 Acetylierung	79
2.2.4 Synthese des 4'.5-Dihydroxy-3.3'.6.7-tetramethoxyflavons	79
2.2.4.1 Methylierung der synthetischen Verbindung	85
2.2.4.2 Acetylierung der synthetischen Verbindung	85
2.3 Untersuchung einzelner Teile von Matricaria chamomilla	86
2.4 Untersuchung von Flores Chamomillae verschiedener Herkunft auf das Vorkommen von F_K	89
2.5 Untersuchung verwandter Arten auf das Vorkommen von F_K	89

	Seite
VI Diskussion	91
VII Zusammenfassung	95
Literaturverzeichnis	97
Lebenslauf	101

I. Einleitung und Problemstellung

Gemeinsamkeiten in physikalischen Eigenschaften können dafür verantwortlich sein, daß Pflanzenstoffe, auch wenn sie biosynthetisch nicht in enger Beziehung stehen, innerhalb der Pflanze am selben Ort deponiert werden. So müssen Stoffwechselprodukte, gleichgültig welcher Konstitution, die die Pflanze in die Vakuolen ausscheidet, wie die Vakuolenflüssigkeit hydrophile Eigenschaften besitzen. Stoffe in dieser Weise auszuscheiden, ist jeder Pflanze möglich. Nun haben manche Pflanzen im Zusammenhang mit besonderen Stoffwechselleistungen anatomisch differenzierte Einrichtungen entwickelt, in die sie lipophile Stoffe ausscheiden. Dafür sind die ätherischen Öle das auffälligste Beispiel. Aber auch andere Stoffwechselprodukte wie beispielsweise Alkaloide werden, wenn sie extrem lipophil sind, in gesonderten Geweben oder Gewebehöhlräumen abgelagert (z. B. Coniin in den Früchten von *Conium maculatum* oder Damascein in der Samenschale von *Nigella damascena*).

HÄNSEL (1962) wies darauf hin, daß es Korrelationen zwischen Pflanzenstoffen verschiedener biologischer Genese gibt. Er stellte fest, daß sich die Fähigkeit zur Speicherung lipophiler Substanzen nicht auf ätherische Öle beschränkt. In diesen Pflanzen werden oft auch methoxylierte, also relativ lipophile Flavonoide gefunden. Es ist sehr wahrscheinlich, daß Flavonoide mit lipophilen Eigenschaften nicht am selben Ort (Vakuole) wie die hydrophilen, hydroxylreichen Glykoside dieser Stoffklasse in der Pflanze lokalisiert sind. Vielmehr kann vermutet werden, daß methoxylierte Flavonaglyka zusammen mit anderen, ebenfalls lipophilen Substanzen abgelagert werden. In unserem Falle heißt das, daß wir in den Exkretbehältern neben den "normalen" Bestandteilen ätherischer Öle (Terpenen und Phenylpropanen) u. U. auch methoxylierte Flavone antreffen können.

Um die Gültigkeit dieser Annahme zu prüfen, sollte die Lokalisation von Flavonoiden in Citrusfrüchten exakt bestimmt werden. Als Untersuchungsobjekte erschienen die Citrusarten deshalb besonders geeignet, weil bei ihnen die Korrelation: Exkretbehälter - hochmethylierte Flavone, bekannt ist und ihre Ölbehälter für eine Entnahme des Exkrets gut zugänglich sind.

Außerdem war zu prüfen, wie weit man die Korrelation Exkretbehälter - lipophile Flavonoide verallgemeinern kann. Hierfür wählten wir zusätzlich *Matricaria chamomilla* und einige verwandte Arten, bei denen lipophile Flavone bisher noch nicht nachgewiesen wurden, als Untersuchungsobjekte. *Matricaria chamomilla* erschien uns aus folgenden Gründen prüfenswert:

- a. Es ist bekannt, daß *Matricaria chamomilla* sowohl größere Mengen von Flavonoiden als auch ätherisches Öl enthält.
- b. FREEDMAN und MERRIT (1963) wiesen nach, daß lipophile Flavone, z. B. Nobiletin, eine beachtliche antiphlogistische Aktivität entfalten. Da die entzündungswidrige Wirkung der Kamille mit den Verbindungen des ätherischen Öls, Chamazulen, Farnesen und Bisabolol, nur unvollkommen erfaßt wird, könnte es möglich sein, daß lipophile Flavone an dieser Wirkung beteiligt sind.

Die taxonomische Wertigkeit lipophiler Flavonoide wurde von RIMPLER (1964; 1965) diskutiert. Da die Arbeit weiteres Material über die Korrelation von Exkretbehältern mit dem Vorkommen lipophiler Flavonoide bringt, soll nochmals auf die Problematik derartiger Merkmale eingegangen werden.

II. Botanische Beschreibung der untersuchten Pflanzenarten

1. Citrusarten

Die Gattung *Citrus* wird nach ENGLER (1931) mit 12 weiteren Genera zur Subtribus Citrinae zusammengefaßt. Die Subtriben Citrinae und Hesperethusinae bilden die einzige Tribus (Aurantieae) der Unterfamilie Aurantioideae. Die Aurantioideae und 6 weitere Unterfamilien bilden die Familie Rutaceae.

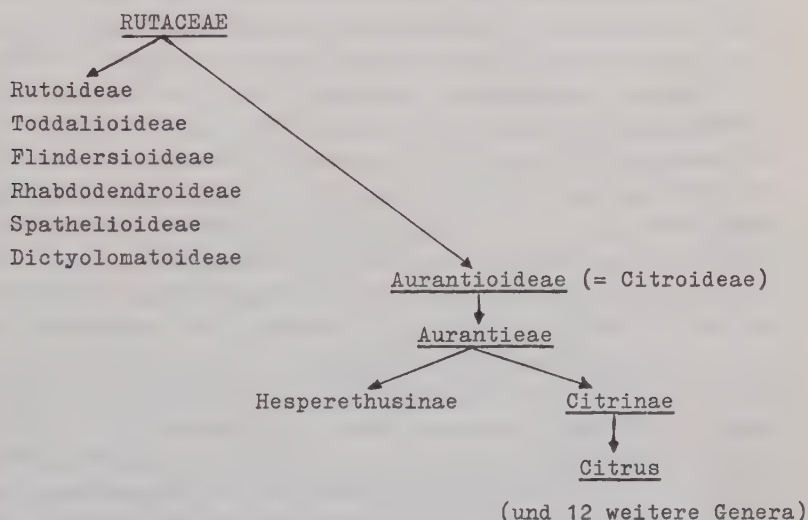


Abbildung 1: Die taxonomische Stellung der Gattung *Citrus*

Citrus ist unzweifelhaft die ökonomisch wichtigste Gattung der ganzen Familie. Als ihre Heimat wird allgemein Südostasien (indisch-malayisches Monsungebiet, China) und Australien angesehen. Citrusarten sind schon seit Jahrtausenden in Kultur genommen und werden heute überall in den Tropen und Subtropen angebaut. Hauptanbauggebiete sind die Küstenländer des Mittel-

meeres, Kalifornien und Florida. Die langwährende Kultivierung bringt es mit sich, daß die Umgrenzung und Unterscheidung der Arten und wichtigsten Varietäten größte Schwierigkeiten bereitet. Auch über die Entstehung der zahllosen Kulturrassen herrscht Unsicherheit, namentlich über den Grad der systematischen Selbständigkeit vieler Formen.

Nach SCHOLZ (1964) werden 60 Arten unterschieden (andere Angaben: nach HEGI 7 bis 8 Arten; nach ENGLER, 1931, 11 Arten).

Die Citrusgewächse sind kleine immergrüne Bäume oder Sträucher mit wechselständigen, in der Regel ledrigen, dunkelgrünen, kahlen, meist einfachen (selten dreizähligen) Blättern, deren Stiele berandet oder geflügelt sind. Die Blätter sind lanzettlich bis eiförmig-elliptisch, meist ganzrandig, oft aber auch mit gekerbten oder gesägten Blatträndern. Sie weisen, wie alle vegetativen Organe der Citrusarten, zahlreiche Exkretbehälter auf. Vielfach treten, besonders bei jungen Pflanzen, Dornen auf, ihrer Herkunft nach zumeist Blattdornen. Die weiß oder rötlich gefärbten, wohlriechenden, im allgemeinen zwittrigen Blüten stehen in der Regel in blattachselständigen Doldentrauben, selten einzeln. 4 bis 5 Sepalen bilden einen 4 bis 5 - zähligen Becher. Die Kronblätter (4 bis 8) haben eine lineal-längliche Form, sind relativ dick und stark drüsig. Staubblätter sind meist in größerer Zahl vorhanden (20 bis 60). Sie stehen in zwei Kreisen, einem äußeren, einfachen, von 5 Stamina gebildeten vor den Sepalen und einem inneren, durch Spaltung stark vermehrten vor den Petalen. Das Gynaezeum wird von einem polsterförmigen oder ringförmigen Diskus getragen. Es wird aus 3 bis 5 Karpellen gebildet und ist fünf- bis vielfächerig, mit 4 bis 8 in zwei Reihen stehenden Samenanlagen. Die Frucht ist eine Beere, die eine besondere, für die Subtribus Citrinae charakteristische Ausbildung aufweist. Die Früchte sind kugelig bis länglich geformt, vielfach zitzenförmig auslaufend. Da die Früchte die speziellen Untersuchungsobjekte darstellen, soll auf ihre Ausgestaltung näher einge-

gangen werden. Die Entwicklung der Citrusfrucht geht in eigenartiger Weise vor sich. In der unreifen Frucht bemerkt man am äußeren Rand der Fruchtfächer kleine Gewebezotten (Emergenzen), die im Laufe der Reife in die Fruchtfächer hineinwachsen und schließlich das ganze Fruchtfach ausfüllen. Das fleischige Gewebe der Citrusfrüchte besteht später in erster Linie aus diesen keulenförmigen Emergenzen (Pulpa). Im gelben Gewebe des Perikarps (Flavedo) der Citrusfrüchte liegen zahlreiche Exkretbehälter von 1 bis 2 mm Durchmesser. Über den Exkretbehältern ist die Epidermis eingesenkt, gleichsam deren Deckel bildend, was den Früchten oft ein grobporiges Aussehen verleiht. Das Vorhandensein von mehrzelligen, ätherisches Öl führenden Exkretbehältern von teilweise beträchtlicher Größe ist ein die gesamte Familie der Rutaceae verbindendes Merkmal, das sie von nahestehenden Familien unterscheidet. Die Innenschicht des Perikarps (Albedo) besteht aus einem farblosen, schwammigen, degenerierten Gewebe. Albedoartig degenerieren auch die Septen des Fruchtknotens. Im Achsenbereich der Frucht befindet sich ein säulenartiges Gebilde, die "Columella", das an der Basis fest mit der Fruchtschale verbunden ist und ebenfalls albedoartige Beschaffenheit annimmt.

In der vorliegenden Arbeit wurden die Früchte folgender Citrusarten untersucht:

Citrus sinensis (L.) OSBECK

(= *C. aurantium* var. *sinensis* L.), Apfelsine

Citrus sinensis ist ein Baum von 8 bis 13 m Höhe, dessen Zweige meist bedornt sind. Diese Art wird in den Tropen und Subtropen kultiviert. Sie existiert in einer großen Zahl von Varietäten und Zuchtformen. Die orangefarbenen Früchte sind meist rundlich, seltener oval oder birnenförmig.

Citrus paradisi MACF., Grapefruit

Citrus paradisi ist ein Baum von kräftigem Wuchs. Aus den traubig oder in Trugdolden stehenden Blüten entwickeln sich gelbgefärbte Früchte, die größer sind als die der Apfelsine (Durchmesser: 12 bis 15 cm). Grapefruits werden hauptsächlich in

Israel und den USA angebaut.

Citrus reticulata BLANCO

(= *C. nobilis* LOUR.), Mandarine

Citrus reticulata ist in Südasien heimisch, wird aber heute wie alle wirtschaftlich wichtigen Citrusspecies in vielen tropischen und subtropischen Gebieten angebaut. Sie bildet Sträucher oder kleine Bäume. Die Blätter sind im Unterschied zu den glattrandigen der *Citrus sinensis* schwach gekerbt. Aus den in Büscheln stehenden weißen Blüten entstehen orange-farbene, kugelige, an den Polen abgeflachte Früchte mit einem Durchmesser von etwa 6 bis 7 cm. Die Fruchtschale ist im allgemeinen dünner als das der anderen Citrusfrüchte und besonders leicht vom Fruchtfleisch zu lösen.

Die Clementine ist erst in den zwanziger Jahren dieses Jahrhunderts botanisch-systematisch erfasst worden. In morphologischer Erscheinung gleicht sie weitgehend der Mandarine. Sie galt zunächst als Bastard zwischen Mandarine und Apfelsine. Nach SWINGLE (zitiert nach ESDORN, 1961) ist sie dagegen als intraspezifischer Rassenbastard der Mandarine anzusehen.

Citrus limon BURM.

(= *C. medica* L. subsp. *limonum*), Zitrone

Citrus limon ist ein Strauch oder 3 bis 7 m hoher Baum. Als Heimat gilt Vorderindien oder China. Heute werden Zitronen überall in tropischen und subtropischen Gebieten kultiviert. Die Blüten sind rötlich gefärbt, die reifen Früchte gelb, kugelig oder länglich geformt mit zitzenförmig auslaufenden Enden.

2. *Matricaria chamomilla*, L., Kamille

Matricaria gehört zur Familie der Compositae (=Asteraceae), die nach HOFFMANN (1894) in zwei Unterfamilien eingeteilt wird, die Tubuliflorae (=Asteroideae) und die Liguliflorae (=Cichorioideae). Die Gattung *Matricaria* wird innerhalb der Tribus Anthemideae den Tubuliflorae (insgesamt 12 Triben) zugeordnet. Sie umfaßt nach HOFFMANN (1894) und nach WAGENITZ

(1964) 50 Arten. HEGI dagegen gibt ihre Zahl mit 70 an. *Matricaria chamomilla* ist ein annuelles Kraut, das bis zu 55 cm Höhe wachsen kann. Der Stengel steht aufrecht, ist kahl und meist ästig verzweigt. Die Laubblätter sind zwei- bis dreifach fiederteilig; ihre schmal - linealen, spitz endenden Abschnitte sind kaum breiter als 0,5 mm. Die langgestielten Anthodien stehen einzeln. Sie werden halbkugelförmig von einer Hülle aus 20 bis 30 nahezu einreihig stehender, grüner, braunberandeter Hüllblätter umgeben. Die Köpfchen enthalten zahlreiche goldgelbe Scheibenblüten, die von einem Kranz weißer Zungenblüten umgeben werden. Im Unterschied zu nahestehenden Arten ist der Blütenboden der Kamille hohl. Spreublätter sind nicht vorhanden. *Matricaria chamomilla* trägt wie viele Kompositen zahlreiche Drüsenhaare. Diese Drüsenhaare entstehen aus Epidermiszellen, deren Außenwand sich vorwölbt. Die Vorwölbung wird zunächst durch eine Wand von der Fußzelle getrennt, darauf werden beide, sowohl Fußzelle als auch Drüsenhaaranlage durch senkrecht zur Organoberfläche stehende Wände in je zwei nebeneinander liegende Zellen getrennt. Die Drüsenhaarzellen teilen sich in der Folge noch drei bis viermal durch Horizontalwände, daß schließlich ein vier- bis fünfstöckiges Drüsenhaar entsteht, dessen Zellen etagenartig übereinander liegen (HUMMEL und STÜRMER, 1955). Die Drüsenhaare sind von einer Kutikula überzogen. Das Exkret wird unter die Kutikula abgegeben. Der subkutikuläre Raum entsteht durch Schrumpfen der sezernierenden Zellen. Drüsenhaare werden an allen oberirdischen Teilen der Pflanze angelegt. Im Verlauf des Wachstums verkümmert ein großer Teil und fällt dann ab. An der blühenden Pflanze findet man Drüsenhaare beinahe ausschließlich in der Blütenregion und zwar bevorzugt am Fruchtknoten und der Blütenkrone. Endogene, schizolysigen entstandene Exkretorgane befinden sich im Blütenboden und in den Hüllblättchen. *Matricaria chamomilla* ist in Süd- und Osteuropa und Vorderasien beheimatet, seit Jahrhunderten schon in ganz Europa verbreitet und in Nordamerika und Australien

eingeschleppt. Sie wird als eine der wichtigsten Drogen noch heute in verschiedenen Gebieten Mitteleuropas kultiviert.

III. Bisherige Kenntnisse über das Vorkommen von Flavonen in den untersuchten Pflanzenarten

1. Die Flavone in den Citrusarten

Die Flavanonglykoside Hesperidin und Naringin sind die in Citrusarten dominierenden Flavonoide und seit langem bekannt. Erst viel später, mit Verfeinerung der Untersuchungsmethoden, gelang es, auch Flavonoide zu isolieren, die in weitaus geringeren Mengen vorhanden sind. Die bis heute vorliegenden Ergebnisse weisen die Gattung Citrus als eine Pflanzengruppe aus, die fähig ist, eine außerordentliche Vielzahl von Strukturvarianten zu synthetisieren, unter denen sonst selten anzutreffende Substitutionsmuster genauso zu finden sind, wie weit verbreitete (Abbildung 2, S. 21).

1.1 Citrus sinensis

Im Jahre 1957 isolierte BORN aus Orangen eine Substanz, die sie drei Jahre später als das synthetisch bereits bekannte 3'.4'.5. 6. 7.-Pentamethoxyflavon bestimmte (BORN, 1960). SWIFT betreibt die Isolierung von Flavonen aus Orangen systematisch und in großem Maßstabe. Aus der neutralen Fraktion des aus Orangenschalenpreßsaft gewonnenen Benzolextrakts gelang es ihm, Nobiletin (1960) und Sinensetin, das mit dem von BORN isolierten Pentamethoxyflavon identisch ist, zu gewinnen (SWIFT, 1964). Später konnte er aus der gleichen Fraktion noch Auranetin, das bis dahin nur in Citrus aurantium bekannt war, Tangeretin, 3.3'.4'.5.6.7.8-Heptamethoxyflavon und das Tetramethylscutellarein isolieren (SWIFT, 1965).

1.2 Citrus paradisi

Über die quantitativ unauffälligeren Flavone der Grapefruit ist wenig bekannt. DUNLAP und WENDER (1962) isolierten durch säulenchromatographische Trennung eines kommerziellen Flavonoidpräparates aus Grapefruits Rhoifolin (Apigenin - 7 - rhamnoglucosid) und aus dem Hydrolysat des Grapefruit - Flavonoid - Komplexes noch Kaempferol.

1.3 Citrus reticulata

Citrus reticulata war die erste Pflanze, in der ein permethyliertes (Hydroxy-) Flavon, das Tangeretin, gefunden wurde (NELSON, 1934). GOLDSWORTHY und ROBINSON (1937) bestimmten es zunächst, da es in einigen physikalischen Daten mit einem Syntheseprodukt übereinstimmte, als 4'.3.5.6.7-Pentamethoxyflavon. Dieselben Autoren korrigierten 20 Jahre später dieses Ergebnis. Die endgültige Struktur des Tangeretins ist die eines 4'.5.6.7.8-Pentamethoxyflavons (GOLDSWORTHY und ROBINSON, 1957). Es ist somit mit dem inzwischen aus einer anderen Citrusart, Citrus poonensis, isolierten Ponkanetin identisch (ICHIKAWA und YAMASHITA, 1941). Auch das Nobiletin ist erstmalig aus Mandarinen gewonnen worden (TSENG, 1938). Beide Flavone wurden später auch von anderen Untersuchern aus Citrus reticulata isoliert (RIGANESIS, 1956; VENTURELLA et al. 1961 und 1962).

1.4 Die Clementine ist unseres Wissens auf Flavone bisher nicht untersucht worden.

1.5 Citrus limon

Die Flavone in Citrus limon sind durch Arbeiten aus dem Kreis um HOROWITZ recht gut bekannt. Aus dem Hydrolysat eines kommerziellen Flavonoid-Komplexes isolierte HOROWITZ (1957) ein Dimethylderivat des Gossypetins, für das er den Namen Limocitrin vorschlug. Bei fortgeführter Analyse des

Hydrolysats gelang es, Apigenin, Luteolin, Chrysoeriol, Diosmetin, Quercetin, Isorhamnetin und zwei bis dahin in der Natur unbekannte Flavone, Limocitrol und Isolimocitrol zu gewinnen (HOROWITZ und GENTILI, 1960; GENTILI und HOROWITZ, 1964). Limocitrin wurde als 3'.8-Dimethoxy-3.4'.5.7-tetrahydroxyflavon bestimmt (HOROWITZ und GENTILI, 1961). Limocitrol und Isolimocitrol sind Derivate des 3.3'.4'.5.6.7.8-Heptahydroxyflavons: Limocitrol ist der 3'.6.8-Trimethyläther und Isolimocitrol der 4'.6.8-Trimethyläther dieser Verbindung (GENTILI und HOROWITZ, 1964; DREYER, 1964). Limocitrin, Limocitrol und Isolimocitrol liegen genuin als 3- β -D-Glucoside vor.

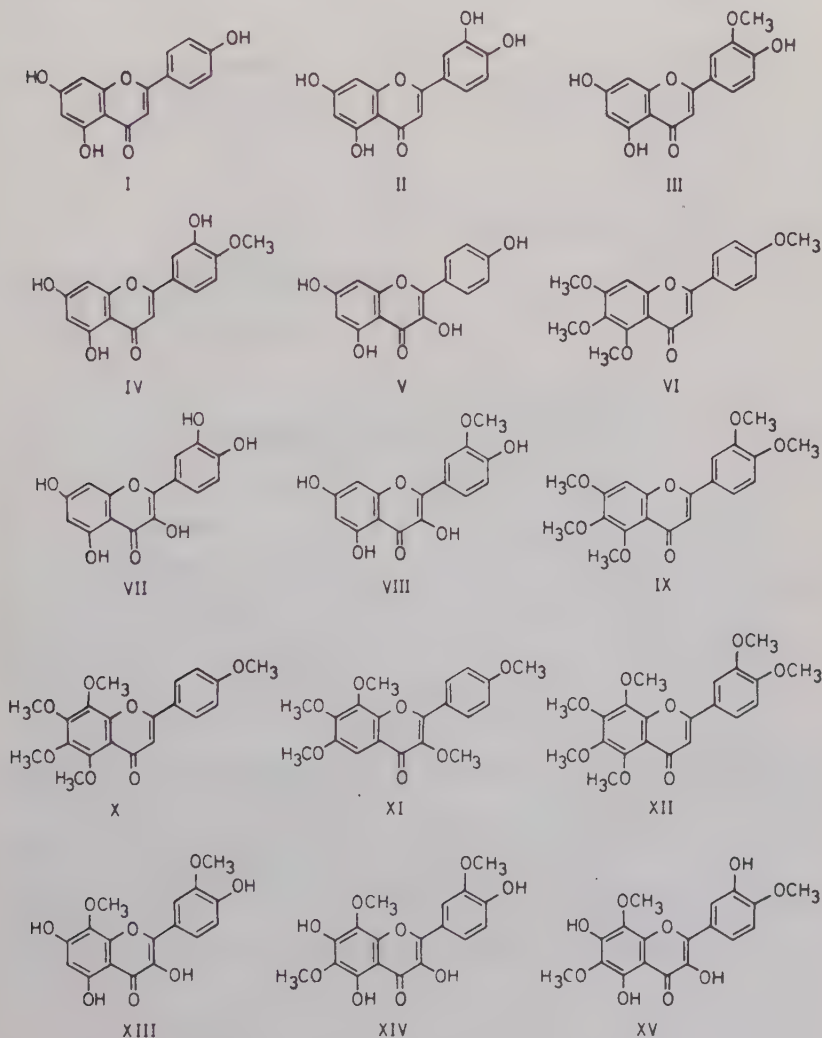
2. Die Flavone in *Matricaria chamomilla*

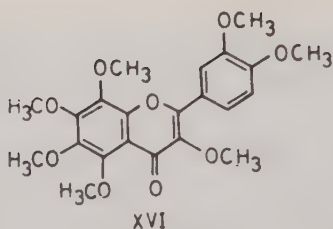
Die Flavone der Kamille sind ihrer Konstitution nach nur teilweise bekannt. Als erstes wurde das Apigenin isoliert (POWER und BROWNING, 1914), das quantitativ den Hauptanteil des Flavonoid - Komplexes der Kamille stellt (SORM, 1952). Die weißen Randblüten sollen nur das Apigenin und Glykoside dieser Verbindung enthalten (WAGNER und KIRMAYER, 1957). TYIHAK und Mitarbeiter (1962) wiesen in einer papierchromatographischen Untersuchung der Kamillenblüten 6 verschiedene Glykoside des Apigenins nach. Eins der Glykoside, das Apigenin-7-glucosid (Cosmosiin) war bereits von LANG und SCHWANDT (1957) beschrieben und isoliert worden. Der Nachweis eines weiteren Apigeninglykosids, des Apiins (Apigenin-7-apiogluco- sid) in den weißen Randblüten ist nur papierchromatographisch erbracht worden (WAGNER und KIRMAYER, 1957). Die gelben Scheibenblüten enthalten in erster Linie Polyhydroxyflavone. LANG und SCHWANDT (1957) isolierten daraus das Quercitrin (Quercetin-7-glucosid). Dieselbe Verbindung (ebenso Apigenin-7-glucosid) konnte auch von HÖRHAMMER und Mitarbeitern (1963) in einer späteren Untersuchung aus der Kamille gewonnen werden. Darüberhinaus wiesen diese Autoren dünn- schichtchromatographisch 11 verschiedene Flavonverbindungen

nach. Es gelang ihnen, zwei weitere Flavone zu isolieren, das Luteolin-7-glucosid und Patulitrin (6-Methylquercetin-7-glucosid.)

3. Formelbilder der bisher bekannten Flavone in den untersuchten Pflanzenarten:

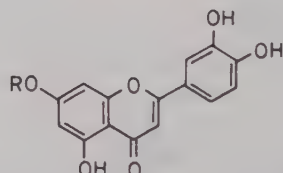
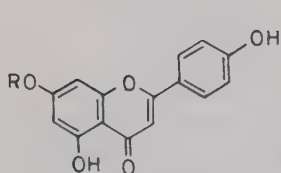
Abbildung 2: Die Flavone in den untersuchten Citrusarten





I = Apigenin	IX = Sinensetin
II = Luteolin	X = Tangeretin
III = Chrysoeriol	XI = Auranetin
IV = Diosmetin	XII = Nobiletin
V = Kaempferol	XIII = Limocitrin
VI = Tetramethylscutellarein	XIV = Limocitrol
VII = Quercetin	XV = Isolimocitrol
VIII = Isorhamnetin	XVI = 3.3'.4'.5.6.7.8-Hepta- methoxyflavon

Abbildung 3: Die Flavone in *Matricaria chamomilla* L.



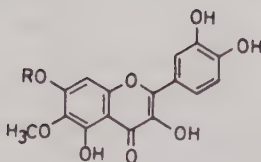
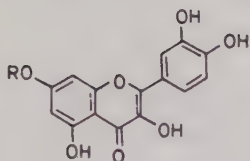
R = H = Apigenin

R = Glucose = Cosmosiin

R = Apioglucose = Apiin

R = H = Luteolin

R = Glucose = Luteolin-7-glucosid (=Glucoluteolin)



R = H = Quercetin

R = Glucose = Quercimeritrin

R = H = Patuletin

R = Glucose = Patulitrin

IV. Über pflanzliche Exkretion

1. Allgemeines

Im Verlauf des pflanzlichen Stoffwechselzyklus werden nicht nur Stoffe in die lebende Zelle aufgenommen und umgeformt, sondern es gelangen in jeder Phase des Stoffwechsels auch Stoffe zur Ausscheidung. FREY-WYSSLING (1935) hat das ganze Problem der pflanzlichen Stoffausscheidung zusammenfassend und kritisch behandelt. Seine Vorstellungen dürften im wesentlichen auch heute noch gültig sein. Er definierte Ausscheidungsprodukte als Stoffe, die vom lebenden Protoplasten abgeschieden und nicht wieder in den Stoffwechsel einbezogen werden und unterscheidet gemäß dieser Bestimmung vier Gruppen von Ausscheidungsstoffen:

Gerüstsubstanzen (ausgeschiedene Assimilate, z. B. Zellulose, Pektin)

Rekrete (anorganische Ausscheidungsstoffe)

Exkrete (ausgeschiedene Dissimilationsprodukte)

Sekrete (ausgeschiedene Assimilate mit physiologischer Funktion)

Wenn es bis heute Unstimmigkeiten unter den Pflanzenphysio-

logen über diesen Teil des Stoffwechsels gibt, so hat das folgende Gründe: Einmal werden physiologische Gesichtspunkte bei der Zuordnung eines Stoffes zu den Ausscheidungen ins Spiel gebracht. So meint KISSER (1958), daß man die Gerüstsubstanzen als integrierende Bestandteile der pflanzlichen Zelle schwerlich als Ausscheidungsstoffe bezeichnen könne. Er will solche Substanzen vielmehr als Ausscheidungen des Protoplasmas bezeichnet sehen. Ausscheidungen dagegen seien Stoffe, die aus der Einheit "Zelle" eliminiert werden. Andererseits ist die Problematik der Ausscheidung offenbar rein sprachlicher Natur, dadurch nämlich, daß die Begriffe Ausscheidung und Exkretion oft synonym gebraucht werden. Das ist aber bei einer sehr allgemein gehaltenen Begriffsbestimmung der Ausscheidung nicht möglich. FREY - WYSSLING hat richtig die Exkretion als Teil der Ausscheidung, die dissimilatorischen Vorgängen folgt angesehen (als Exkrete aber nur die ätherischen Öle behandelt).

Wir bezeichnen Exkrete als Stoffwechselendprodukte, die im Zuge der Dissimilation aus Metaboliten des Intermediärstoffwechsels in einem aus dem Grundstoffwechsel abgeleiteten Prozeß, dem Sekundärstoffwechsel (REZNIK, 1960), gebildet und aus dem Cytoplasma ausgeschieden werden. Nach dieser Definition bestehen Exkrete immer aus sekundären Pflanzenstoffen. Zu Exkreten werden sekundäre Pflanzenstoffe dann, wenn sie irreversibel aus dem aktiven Stoffumsatz ausscheiden.

Der Begriff "sekundäre Pflanzenstoffe" geht auf CZAPEK (1925) zurück, der damit Stoffe bezeichnet, die durch nicht jedem Plasma eigene Prozesse entstanden sind und somit sekundären Charakter haben. Das bedeutet, daß die Pflanzen entsprechend ihrer erblichen Konstitution nicht nur den Stempel einer morphologischen, sondern ebenso den einer chemischen Typisierung erhalten. Der Variabilität der morphologischen Merkmale entspricht damit eine große Mannigfaltigkeit des chemischen Aufbaus.

Jeder Stoffwechsel ist eine Folge gekoppelter Reaktionen, die im Idealfall so aufeinander abgestimmt sind, daß niemals Zwischenprodukte liegenbleiben. Höhere Pflanzen, deren Versorgung mit Assimilaten überaus reichlich ist, sind auf eine äußerste Ökonomie nicht angewiesen. Disharmonien im Ablauf der Kettenprozesse und in Verbindung damit Ansammlung von Intermediärverbindungen können der Beginn der Bildung sekundärer Stoffe sein. Auch wenn sekundäre Pflanzenstoffe aus dem aktiven Stoffumsatz ausscheiden, ist nicht ausgeschlossen, daß sie weiteren Umsetzungen unterliegen. Bedingt durch die besondere Art pflanzlicher (innerer) Exkretion, bestehen noch viele Möglichkeiten, Neben- und Endprodukte solange umzusetzen, bis sie reaktionsträge geworden und dem Stoffwechsel nach Ringschlüssen, Methylierungen, Kondensationen weitgehend entfremdet sind.

Für die Zuordnung eines sekundären Pflanzenstoffes zu den Exkreten ist unerheblich, ob er noch sekundäre Funktionen übernimmt. Es gelingt auch nur in Einzelfällen, ihnen eine teleologische Bedeutung (z. B. Produkte von Entgiftungsprozessen, Reservestoffe) zuzuschreiben.

Die irreversible Ablagerung solcher Stoffe erscheint in jedem Falle als unökonomischer, rational unzweckmäßiger Vorgang. Die Frage, warum diese Stoffe von der Pflanze gebildet werden läßt sich nicht beantworten. Sie als notwendige Abfall- oder Schlackenstoffe anzusehen, erscheint in keiner Weise gerechtfertigt, wenn man bedenkt, daß sich viele durch einen hohen Energieinhalt auszeichnen oder, daß es sich um Stoffe mit physiologisch durchaus verwertbaren Bestandteilen (z. B. Aminosäuren in Alkaloiden, Zucker der Glykoside) handelt. Vielmehr scheinen sie Erzeugnisse eines luxurierenden Stoffumsatzes zu sein, zu dem die Pflanzen entsprechend ihrer Versorgung mit Assimilaten in der Lage sind (PAECH, 1950). Dafür spricht, daß überall

dort, wo Pflanzen unter bescheidenen Ernährungsbedingungen gedeihen, sekundäre Stoffe nur in geringem Umfang synthetisiert werden. Es ist zu dem kaum ein Fall bekannt geworden, bei dem die Pflanze auch unter extremen Hungerbedingungen exkretierte Stoffe für den Stoffwechsel wieder mobilisierte.

Alle sekundären Pflanzenstoffe mit Exkretcharakter (MOTHES, 1965), deren Zahl und struktureller Aufbau unendlich groß ist, haben naturgemäß engste Beziehungen zu den Metaboliten des Grundstoffwechsels. Die Zahl der Bausteine der sekundären Stoffe ist im Vergleich zur Vielfalt ihrer chemischen Individuen überraschend klein. Sie bilden deshalb ein ausgezeichnetes Ordnungsprinzip für die systematische Erfassung dieser Pflanzenstoffe. Nach ihrem markantesten Bestandteil und deren Bauprinzip lassen sich die sekundären Pflanzenstoffe in fünf Abteilungen zusammenfassen:

1. Polyacetate, 2. Isoprenoide, 3. Phenylpropane und 4. stickstoffhaltige Verbindungen. Durch Verknüpfung verschiedener Bausteine entstehen 5. Stoffe mit gemischtem Bauprinzip.

Diese Grundbausteine sind eben wegen ihrer engen Beziehungen zum Grundstoffwechsel jeder Pflanze eigen. Welche Voraussetzungen dazu führten, daß verschiedene Taxa sich hinsichtlich ihrer sekundären Pflanzenstoffe unterscheiden, ob hierfür besondere Synthese- oder aber Speicherungsfähigkeiten verantwortlich zu machen sind, ist heute noch nicht geklärt.

Im Unterschied zum Tier ist die Pflanze in der Regel nicht fähig, flüssige oder feste Exkrete nach außen abzuscheiden. Dagegen ist sie hervorragend für die Speicherung eingerichtet. Voraussetzung für die Speicherung innerhalb der Pflanze ist, daß die Ablagerung in "sinnvoller" Weise geschieht und den Kampf ums Dasein nicht behindert (SCHWARZE, 1958).

Physiologisch betrachtet kann die Ausscheidung auf folgenden Wegen vor sich gehen (PAECH, 1950):

1. Ausscheidung durch spontane (nichtenzymatische) Reaktion (z. B. Salzbildung).

2. Translokation: Manche Stoffe werden nach ihrer Bildung durch den Transpirationsstrom an andere Stellen umgelagert (z. B. bei Alkaloiden: Synthese in der Wurzel, Speicherung in oberirdischen Teilen der Pflanze). Als Translokation kann auch der Übergang eines Stoffwechselproduktes aus dem Plasma in die Vakuole oder die Adsorption an die Zellmembran angesehen werden.

3. Intraplastische Trennung: Noch kleiner kann der Schritt der Absonderung sein. Schon der Übergang in eine andere Phase desselben Protoplasten kann ausreichen, die rückläufige Umwandlung zu verhindern. Solche Übergänge sind dann zu erwarten, wenn die Reaktionsprodukte eine geringere Affinität zu den Strukturen des Reaktionsortes haben als das Substrat (z. B. Bildung lipophiler Verbindungen aus hydrophilen.)

Aus chemisch-physikalischer Sicht verläuft die Bildung von Exkreten in drei verschiedenen Richtungen:

1. Synthese von wasserunlöslichen, hochmolekularen Verbindungen. Hierher gehört die Bildung von Lignin und Wachsen. Sie ist der Bildung von Zellulose vergleichbar.

2. Synthese niedermolekularer, lipophiler Verbindungen. Als Prototypen dieser Richtung sind Balsame und ätherische Öle anzusehen.

3. Synthese niedermolekularer, hydrophiler Verbindungen. Hierzu sind unter anderen alle glykosidisch gebundenen Stoffe zu rechnen.

Nach dem Ort der Ablagerung innerhalb der Pflanze können wir mit REZNIK (1960) unterscheiden:

1. Die in die Zellwand gerichtete, membranotrope und
2. die chymotrope, in die Vakuole gerichtete Exkretion. Diese Exkretionsrichtung ergänzte RIMPLER (1964) durch
3. die glandulotrope (in anatomisch differenzierte Exkreträume)

und

4. die epidermale Exkretion.

Die Korrelationen zwischen diesen Exkretionsrichtungen und den Exkreten liegen auf der Hand: Hochmolekulare Verbindungen werden membranotrop oder epidermal abgelagert. Lipophile, niedermolekulare Stoffe werden hauptsächlich glandulotrop und hydrophile Verbindungen schließlich werden in den wäßrigen Zellsaft der Vakuolen, also chymotrop ausgeschieden. Voraussetzung für die letzte Art der Speicherung ist die chemische Indifferenz der abgelagerten Substanzen. Im anderen Falle, wie bei den energiereichen Terpenen, muß sich die Pflanze durch sichere Abkapselung vor der plasmaschädigenden Wirkung solcher Stoffe schützen.

2. Glandulotrope Exkretion

Das Thema der vorliegenden Arbeit legt es nahe, auf die glandulotrope Art der Exkretion näher einzugehen. Die hier zu behandelnden Exkrete werden üblicherweise als ätherische Öle (Balsame, Harze) bezeichnet. Ihr Vorkommen in der Pflanze ist mit der Ausbildung geeigneter Exkretträume korreliert, die vorhanden sein müssen, damit die Synthese eines dem Plasma fremden Exkrets von der Pflanze harmonisch eingebaut werden kann (PAECH, 1950). Die Fähigkeit zur Produktion ätherischer Öle ist bei den phylogenetisch jüngeren Pflanzen stärker ausgeprägt als bei den phylogenetisch älteren Organisationsformen. Der größte Teil der heute bekannten, ätherisches Öl führenden Pflanzen (97 %) gehört zum Verwandtschaftskreis der Spermatophyten. Neben der höher organisierten, zu spezifischen Leistungen fähigen Ausrüstung höherer Pflanzen gegenüber niederen Organismen spielt sicher auch in diesem Falle die begünstigte Versorgung mit Assimilaten eine Rolle (die Terpensynthese dagegen ist eine universelle Eigenschaft, zu der sowohl höhere als auch niedere Pflanzen fähig sind). Groß ist die Schar der chemischen Verbindungen die die Bestandteile ätherischer Öle bilden. Nach ihrem Bauplan lassen sie sich auf zwei einfache Grundverbindungen reduzieren.

Eine ist das Isopren, von dem sich die Terpene ableiten. Die Monoterpene, durch Dimerisierung zweier Isopren-Einheiten entstanden, bilden einen Hauptbestandteil ätherischer Öle. Höhere Polymere, Sesquiterpene (3 Isopren-Einheiten) und Diterpene (4 Isopren-Einheiten), treten dagegen als Verbindungen ätherischer Öle zurück. Der zunächst auf Grund struktureller Analogie erkannte Bauplan der Terpene ist durch eingehende Untersuchungen biosynthetisch gesichert. Eine zentrale Stellung bei der Biosynthese der Terpene nimmt die Mevalonsäure ein, deren Entstehung aus Acetat-Einheiten (Kohlenhydratstoffwechsel) und vom Leucin ausgehend (Eiweißstoffwechsel) erfolgen kann.

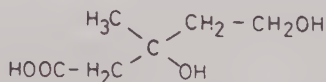


Abbildung 4: Mevalonsäure

Aus Mevalonsäure entsteht dann nach Decarboxylierung und Dehydratisierung die biosynthetische Muttersubstanz aller Terpenoide, das "aktive Isopren" (Isopentenylpyrophosphat).

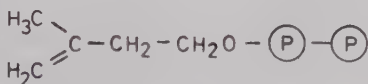


Abbildung 5: "aktives Isopren"

Andere Bestandteile ätherischer Öle lassen sich auf Verbindungen vom Typ des Phenylpropan zurückführen. Die Synthese von Phenylpropanen nimmt ihren Ausgang vom Erythrose - 4-phosphat. Nach Kondensation mit Phosphoenolbrenztraubensäure zu 3-Desoxy-D-arabino-heptulonsäure-7-phosphat führt der Weg über die Zwischenstufen Dehydrochinasäure und Shikimisäure zur Chorisminsäure.

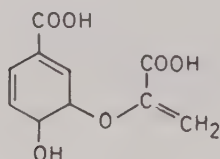


Abbildung 6: Chorisminsäure

Aus Chorisminsäure entstehen nach weiteren Reaktionsschritten einmal einige aromatische Aminosäuren und auch Prephen-säure, die im Phenylpropanstoffwechsel eine ähnlich zentrale Rolle spielt wie die Mevalonsäure bei den Terpenoiden.

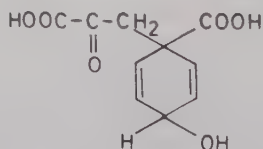


Abbildung 7: Prephen-säure

Monoterpene und Phenylpropane können, wenn sie reaktive Gruppen (z. B. Hydroxylgruppen) tragen, in glykosidisch

gebundener Form chymotrop ausgeschieden werden. Treten sie als Bestandteile ätherischer Öle auf, dann fehlen diese Hydroxylgruppen oder sie sind in Form von Alkyläthern maskiert. Terpenoide und Phenylpropane in ätherischen Ölen besitzen als gemeinsame Eigenschaft eine ausgeprägte Hydrophobie. Es gibt Anhaltspunkte dafür, daß zu den Begleitstoffen ätherischer Öle häufig auch lipophile Flavonoide gehören. Auffallend ist zunächst die Tatsache, daß das Vorkommen lipophiler Flavonoide anscheinend ausnahmslos an das Vorhandensein ätherischer Öle gebunden ist. Dies wird durch die Tabelle 1 (Seite 35) belegt.

2.1 Die Physiologie der glandulotropen Exkretion

In geringer Konzentration können ätherische Öle in Form kleinster Tröpfchen im Plasma normaler Zellen enthalten sein. Bei vielen Blüten befinden sich solche Öltröpfchen in den Epidermen und den angrenzenden Schichten des Mesophylls von Kron- und Kelchblättern. (MAZURKIEWITZ, 1913). Treten ätherische Öle jedoch in größeren Konzentrationen auf, dann werden sie aus dem Cytoplasma eliminiert und in besondere Exkretbehälter ausgeschieden. Über die Vorgänge der Exkretion besteht trotz intensiver Untersuchungen, die bereits im vorigen Jahrhundert begannen, weitgehende Unklarheit. Nur wenig ist als wirklich gesichert anzusehen. Das wesentlichste Ergebnis dieser Untersuchungen ist die Feststellung, daß das Plasma die Produktionsstätte ätherischer Öle ist. Diese Erkenntnis hatte sich gegen die lange herrschende Theorie TSCHIRCHS von der "resinogenen Schicht" durchzusetzen. TSCHIRCH und seine Schüler verlegten die Synthese ätherischer Öle in die Mittellamellen der Zellwände. Ein wichtiger Punkt für diese Annahme war, daß man mit Wasser imbibierte Wände als undurchlässig für ätherische Öle ansah. Man glaubte daher, daß die Zellwand aktiv für die Exkretbildung und Exkretausscheidung verantwortlich sei. Gegen seine Hypothese sprachen folgende Befunde:

1. Das Durchtrittsvermögen ätherischer Öle durch wasserhaltige Zellwände wurde experimentell bestätigt,
2. mikroskopische Beobachtungen,
3. die biologischen Voraussetzung der Terpenbildung, d. h. der große Energieaufwand bei der Synthese der ätherischen Öle dürfte kaum durch die Zellwand allein aufgebracht werden.

Alle Kenntnisse über Exkretionsvorgänge stützen sich auf mikroskopische Beobachtungen. Bei den Exkretzellen ist der Modus der Absonderung am gründlichsten untersucht. Ähnliche Vorgänge dürften aber auch bei den andersgearteten Exkretionen ablaufen:

Die spätere Exkretzelle unterscheidet sich schon früh von den Nachbarzellen durch Größe und reichlicheren Plasmagehalt. Schon in jugendlichem Stadium setzt die Exkretbildung ein. Im Plasma treten kleine Tröpfchen auf, wodurch es emulsionsartig trübe oder feinkörnig wird. Ob diese Tröpfchen Vorstufen des Exkrets sind, ist ungeklärt. Der nächste Schritt besteht in der Ausbildung eines Membranbeutels ("Initialtropfen"), in den das Exkret aus der Zelle ausgeschieden wird. Er besteht aus zwei Teilen, dem der Zellwand angehefteten Näpfchen (Cupula) und der eigentlichen Exkretblase. Die chemische Natur der Cupula und der Blasenhaut ist umstritten. Die Cupula soll nach LEHMANN (1925) aus Zellulose bestehen, während LEEMANN (1928) ihren Aufbau (wie auch den der Blasenhaut) aus phosphatidähnlichen Substanzen annimmt. Ungewiß ist auch die chemische Zusammensetzung der Blasenhaut. Sie soll nach KISSER (1926) aus Zellulose bestehen. LEHMANN hält sie für eine plasmatische Haut, in die fettartige oder vielleicht suberinähnliche Stoffe eingelagert sind. Unbekannt ist ferner, auf welche Weise das Exkret in den Exkretbehälter gelangt. Man stellt sich den Übergang als eine Art Druckfiltration vor: Die Exkrettröpfchen sammeln sich bevorzugt an der dem Exkretbehälter zugewandten Seite in oberflächlichen Vakuolen, aus denen nach Aufreißen der Vakuolenmembran, das

Exkret in den Raum zwischen dem Protoplasten und der Beutelhaut abgegeben wird. Der auf dem Exkret lastende Druck des Protoplasten soll entscheidend beim Übergang in den Exkretbehälter mitwirken. Zu berücksichtigen ist bei diesem Vorgang auch die große Grenzflächenenergie ätherischer Öle. Die entscheidende Leistung könnte nach PAECH (1950) auch in einer Umwandlung der Grenzflächenenergie in mechanische zurückzuführen sein. Der Exkretübergang käme dann so zustande, daß das Exkret das Wasser von der Berührungsfläche der Membran mit dem wäßrigen Poreninhalt und zusätzlich die Luft (bei extrazellulärer Exkretion) in den Interzellularen verdrängt.

In dem Maße, in dem der Ölbeutel wächst, nimmt die Größe des Protoplasmas ab. Der Zellkern bleibt lange erhalten und liegt meist unmittelbar an der Blase, wird an die Wand gedrängt und verschwindet schließlich. Mit der Auflösung des Protoplasten und des Zellkerns endet die Exkretproduktion. Zu diesem Zeitpunkt füllt das Exkret die ganze Zelle. Bereits frühzeitig umgeben sich die Exkretzellen mit einer dünnen Korkhaut. Welche Rolle sie zu spielen hat ist unbekannt. FREY-WYSSLING (1935) und auch KISSER (1958) nehmen an, daß sich die Exkretzelle so vom Stoffaustausch abschließt und der gesamte Zellinhalt zu ätherischem Öl verarbeitet wird.

Von physiologisch-anatomischem Standpunkt lassen sich grundsätzlich zwei Arten der Exkretion unterscheiden:

1. Die intrazelluläre Exkretion. Hierbei sind die ausscheidenden Zellen gleichzeitig Speicherungsort. Solche Exkretzellen sind nicht allzu häufig, sie sind für einige Pflanzenfamilien ein wichtiges taxonomisches Merkmal (z. B. Zingiberaceae, Lauraceae, Piperaceae).

2. Weitaus häufiger ist die extrazelluläre Exkretion, wobei Speicherungsort und ausscheidende Zellen nicht identisch sind. Die Exkrete werden in besondere Exkreträume ausgeschieden. Solche Räume können durch Auflösung oder Spaltung

der Interzellulärsubstanz (schizogene Exkretäume) oder durch Auflösung ganzer Zellkomplexe (lysogene Exkretäume) entstehen. Nur lysigen entstandene Exkretbehälter sind selten anzutreffen. In den meisten Fällen werden lysigene Exkretbehälter zunächst schizogen angelegt und später lysigen erweitert (schizo-lysogene Exkretäume). Nach Form und Größe sind die Exkretbehälter sehr variabel. Sie können z. B. etwa isodiametrisch sein, oder lange Gänge bilden (Exkretkanäle). In manchen Fällen erreichen sie makroskopische Ausmaße (Citrus).

Die Exkretbildung und -ausscheidung erfolgt bei schizogenen Exkretbehältern wohl in ähnlicher Weise wie bei den Exkretzellen durch die den Interzellularraum anliegenden Zellen (Epithelzellen). Sie schließen den Exkretraum nach außen dicht ab und verholzen oder verkorken häufig nach Beendigung der Exkretion. Bei lysigenen Exkretbehältern wird das Exkret vor oder während der Zellauflösung in den der Nekrose anheimfallenden Zellen gebildet, denn nach der Zellfusion ist der entstandene Exkretraum mit Exkret erfüllt.

Sehr verbreitet im Pflanzenbereich ist die Exkretion an der Oberfläche der Pflanzen durch Zellen epidermalen Ursprungs. Hierher gehören die glandulösen Haargebilde (oft als "Drüsenhaare" bezeichnet): Köpfchenhaare, Drüsenschuppen, Drüsenzotten. Diese Exkretionseinrichtungen kommen der im Tierreich üblichen Exkretion nach außen nahe. Die Exkretion wird von einer oder mehreren Endzellen besorgt, die auf einem ein- oder mehrzelligen Stielchen sitzen. Das Exkret wird nach außen abgegeben und sammelt sich zwischen Zellmembran der sezernierenden Endzellen und Kutikula. Die Kutikula ist für Moleküle der Größe der Inhaltsstoffe ätherischer Öle nicht passierbar. Sie dehnt sich bei fortlaufender Exkretproduktion und kann schließlich platzen. In vielen Fällen jedoch bleibt das Exkret bis zum Absterben des Drüsenhaars unter der Kutikula liegen.

3. Anhang: Tabelle 1: Das Vorkommen lipophiler Flavone im Pflanzenreich

Substanz (Trivialname)	Stellung der Substituenten	Stellung d. OCH ₃ -Gr.	Art	äther. Öl	Autor
-	5.6	5.6	Casimiroa edulis	+	IRIARTE, 1956
Tectochrysin	5.7	7	Pinus-Arten	+	ERDTMAN, 1944
-	5.4'.7	4'.7	Betula-Arten	+	BAUER, 1933
-	2'.5.6	2'.5.6	Casimiroa edulis	+	SONDHEIMER, 1960
Demethoxykanugin	3.3'.4'.7	3.7 3'.4' -O>CH ₂	Pongamia glabra	+	MITTAL, 1956
Tetramethylscutellarein	4'.5.6.7	4'.5.6.7	Citrus sinensis	+	SWIFT, 1965
-	5.6.7.8	5.6.7.8	Lindera lucida	+	LEE, 1965
Xanthomicrol	4'.5.6.7.8	6.7.8	Satureja douglassii	+	POWER, 1908 STOUT, 1961
Demethoxysubdachitin	4'.5.6.7.8	6.8	Citrus subdachi	+	HORIE, 1962
Combretol	3.3'.4'.5'.7	3.3'.4'.5'.7 7	Combretum quandrangu- lare	+	(Drüsenh)MONGKOLSUK, 1966
Mikanin	3.4'.5.6.7	4'.6.7	Mikania cordata	+	KIANG, 1965
Tangeretin	4'.5.6.7.8	4'.5.6.7.8	Citrusarten	+	NELSON, 1938 BOHTE, 1959 VENTURELLA, 1961/62

Substanz (Trivialname)	Stellung der Substituenten	Stellung d. OCH ₃ -Gr.	Art	äther. Ol	Autor
Sinensetin	3'.4'.5.6.7	3'.4'.5.6.7	Citrus sinensis	+	BORN, 1957, 1960 SWIFT, 1965
Tambulin	3.4'.5.7.8	4'.7.8	Xanthoxylum acantho- podium	+	BOSE, 1939
Flindulatin	3.4'.5.7.8	3.4'.7.8	Flindersia maculosa	+	BROWN, 1954
Ayanin	3.3'.4'.5.7	3.4'.7	Distemonanthus benthamianus	+	KING, 1952
Auranetin	3.4'.6.7.8	3.4'.6.7.8	Citrus aurantium	+	SARIN, 1960
Kanugin	3.3'.4'.5'.7	3.3'.7 4'.5'- -O>CH ₂ -O>	Pongamia glabra	+	RANGASWAMI, 1942
Desmethyl- tangeretin	4'.5.6.7.8	4'.6.7.8	Citrus jambhiri	+	CHALIHA, 1965
Nevadensin	4'.5.6.7.8	4'.6.8	Iva - Arten	+	FARKAS, 1966
Melissimplexin	3.3'.4'.5.6.7	3.5.6.7 3'.4'. -O>CH ₂ -O>	Melicope simplex	+	BRIGGS, 1949
Melissimplin	3.3'.4'.5.6.7	3.6.7 3'.4'. -O>CH ₂ -O>	Melicope simplex	+	BRIGGS, 1950

Substanz (Trivialname)	Stellung der Substituenten	Stellung d. OCH ₃ -Gr.	Art	äther. Öl	Autor
Meliteratin	3'.4'.5.6.7	3.5 6.7 + 3'.4'. -O>CH ₂	Melicope ternata	+	BRIGGS, 1950
Ternatin	3.3'.4'.5.7.8	3.3'.7.8	Melicope - Arten	+	BRIGGS, 1949
Meliternin	3.3'.4'.5.7.8	3.5.7.8 3'.4'. -O>CH ₂	Melicope - Arten	+	BRIGGS, 1949
Oxyayanin A	2'.3.4'.5.5'.7	3.4'.7	Distemonanthus ben- thamianus	+	KING, 1954
Nobiletin	3'.4'.5.6.7.8	3'.4'.5.6. 7.8	Citrus - Arten	+	TSENG, 1938 SWIFT, 1960
Demethylnobiletin	3'.4'.5.6.7.8	3'.4'.6.7.8	Citrus aurantium	+	SARIN, 1960
Lucidin	3'.4'.5.6.7.8	6.8 3'.4'. -O>CH ₂	Lindera lucida	+	LEE, 1965
Subdachin	3'.4'.5.6.7.8	3'.6.8	Citrus subdachi	+	HORTE, 1961
-	3'.4'.5.6.7.8	5.6.7.8 3'.4'. -O>CH ₂	Lindera lucida	+	LEE, 1965
Calycopteris	3.4'.5.6.7.8	3.6.7.8	Calycopteris floribunda	+	RATNAGIRISARAN, 1934

Substanz (Trivialname)	Stellung der Substituenten	Stellung d. OCH ₃ -Gr.	Art	äther. Ol	Autor
5-Hydroxy-auran- netin	3.4'.5.6.7.8	3.4'.6.7.8	Citrus aurantium	+	SARIN, 1960
Oxyayanin B	3.3'.4'.5.6.7	3.4'.7	Distemonanthus benthamianus	+	KING, 1954
Casticin	3.3'.4'.5.6.7	3.4'.6.7	Vitex - Arten	+	BELIC, 1961 RIMPLER, 1964
Artemetin	3.3'.4'.5.6.7	3.3'.4'.6.7	Artemisia - Arten	+	ADRIAN, 1898
F _K	3.3'.4'.5.6.7	3.3'.6.7	Matricaria chamomilla	+	HÄNSEL, 1966
Melibentin	3.3'.4'.5.6.7.8	3.5.6.7.8 3'.4', -O>CH ₂	Melicope broadbentiana	+	RICHE, 1966
-	3.3'.4'.5.5'. 6.7	3.4'.6.7	Eremophila fraseri	+	JEFFERIES, 1962
Gardenin	3.3'.4'.5.5'. 6.8	3.3'.4'.5'. 6.8	Gardenia lucida	+	BOSE, 1938
-	3.3'.4'.5.6.7.8	3.3'.4'.5. 6.7.8	Citrus - Arten	+	BÖHME, 1959 SWIFT, 1965
Digicitrin	3.3'.4'.5.5'. 6.7.8	3.4'.5'.6. 7.8	Digitalis pupurea	+	(Drüsenh.) MEIER, 1962

V. Eigene Untersuchungen

A. Hauptteil

1. Die lipophilen Flavone in den Früchten der Citrusarten

=====

Das Ziel dieses Teils der Arbeit war es, zu untersuchen, ob lipophile Flavone und ätherische Öle gemeinsam in die Exkretbehälter ausgeschieden werden. Zum Nachweis lipophiler Flavone in den ätherischen Ölen der Citrusfrüchte wurde das Exkret direkt aus den Exkretbehältern entnommen und chromatographisch geprüft.

1.1 Die Entnahme der ätherischen Öle konnte durch eine Kapillare erfolgen, mit der die relativ großen Ölbehälter angestochen wurden.

1.2 Polyamid - DC. lipophiler Flavone

Für die dünnstschichtchromatische Untersuchung wurden Systeme entwickelt, die sich zur Trennung lipophiler Flavone eignen. Besonders gut gelang die Trennung an Polyamidschichten mit Gemischen aus Methanol - Formamid - Wasser (MFW-Gemische, z. B. 60:30:15). Die Laufhöhe der Substanzen in diesem System ist abhängig von der Zahl der Methoxylgruppen: der Rf-Wert steigt mit zunehmender Zahl der Substituenten (s. Tab. 3, S. 44). Dieser Effekt kann so gedeutet werden, daß die Einführung einer zusätzlichen Methoxylgruppe die Gesamtpolarität des Moleküls herabsetzt (EGGER und KEIL, 1965). Erwähnenswert ist das Verhalten von Flavonglykosiden in diesem System. Alle geprüften Glykoside liefen mit MFW-Gemischen weitaus höher als ihre Aglyka. Ihre Rf-Werte lagen etwa in dem Bereich von denen lipophiler Flavonaglyka (zumeist wenig darüber). Von diesen sind sie aber leicht zu unterscheiden, da sie mit den üblichen Sprühreagenzien ähnliche Farbreaktionen zeigen wie ihre Aglyka. Es ist also möglich, auch ohne Hydrolyse auszusagen, ob ein Flavon als Aglykon oder in glykosidisch gebundener Form vorliegt.

1.3 Ergebnisse der chromatographischen und uv - spektrophotometrischen Untersuchung der ätherischen Citrusöle

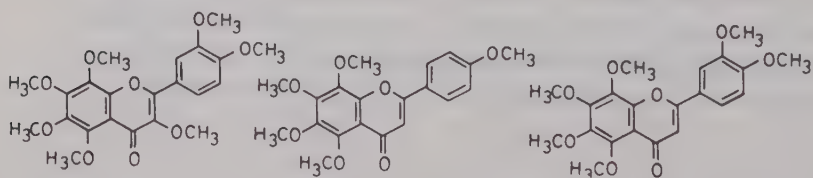
Zur Unterscheidung unserer Verbindungen, die die Arbeitsbezeichnungen F_A , F_B und F_C erhielten, von anderen ebenfalls blau fluoreszierenden Naturstoffen zogen wir die UV - Spektren heran: die getrennten Substanzen wurden dazu aus dem Chromatogramm eluiert, die Eluate dann ausgemessen. Die UV-Spektren von F_A , F_B und F_C zeigten Übereinstimmung mit Literaturwerten von 3.3'.4'.5.6.7.8-Heptamethoxyflavon (I), Tangeretin (II), bzw. Nobiletin (III) (s. Tab. 2, Abb. 8).

Tabelle 2:

UV - Maxima der in Citrusfrüchten nachgewiesenen Flavone F_A , F_B , F_C und die Literaturwerte für 3.3'.4'.5.6.7.8-Heptamethoxyflavon (I), Tangeretin (II) und Nobiletin (III)

Substanz	$\lambda_{\max}$ (nm)	Autoren
F_A I	255, 338 255, 340	-- BÖHME und VÖLCKER, 1959
F_B II	271, 322 272, 324	-- STOUT und STOUT, 1961
F_C III	248, 271, 332 248, 271, 333	-- SWIFT, 1960

Abbildung 8: In Citrusarten nachgewiesene Flavonoide



3.3'.4'.5.6.7.8-Hep-
tamethoxyflavon (I)

Tangeretin (II)

Nobiletin (III)

1.3.1 Isolierung von 3.3'.4'.5.6.7.8-Heptamethoxyflavon, Nobiletin und Tangeretin

Diese orientierenden Befunde sollten durch direkten chromatographischen Vergleich der Flavone in den Exkreten mit isolierten Vergleichssubstanzen belegt werden. Die hierzu benötigten Vergleichssubstanzen wurden aus einem Destillationsrückstand von ätherischem Orangenöl gewonnen. Ich ging dazu ähnlich vor wie BÖHME (1959), der aus einem nicht flüchtigen Rückstand eines Pomeranzenschalenöls 3.3'.4'.5.6.7.8-Heptamethoxyflavon und Tangeretin isoliert hatte. Durch Säulenchromatographie an Aluminiumoxyd wurde der Destillationsrückstand eines ätherischen Orangenöls zunächst vorgetrennt. In diesem Arbeitsgang wurde mit einer Ausbeute von 4,5 % ein bräunlich gefärbtes Mischkristallisat gewonnen, das die drei im genuin entnommenen Öl gesichteten Flavonoide enthielt. (DC-Prüfung). Durch Rechromatographie des Mischprodukts an einer kleineren Aluminiumoxydsäule gelang es, aus dem Gemisch eine Komponente, das 3.3'.4'.5.6.7.8-Heptamethoxyflavon, in reiner Form zu isolieren (Fp. 131 - 132°).

Die beiden anderen Flavone waren auf diesem Wege nicht zu trennen. Tangeretin und Nobiletin konnten durch nachfolgende präparative Schichtchromatographie in reiner Form gewonnen werden (Schmelzpunkte: Nobiletin 138 - 139°; Tangeretin 154 - 155°). Die Werte der Elementaranalysen der drei Flavone stimmen gut mit den berechneten überein. Die Schmelzpunkte und die UV-Spektren zeigen Übereinstimmung mit Literaturwerten (SWIFT, 1960; BÖHME, 1959; STOUT, 1961). Die Identität von 3.3'.4'.5.6.7.8-Heptamethoxyflavon und Nobiletin wurde darüberhinaus durch die Bestimmung des Mischschmelzpunktes mit authentischen Substanzen gesichert.

In der nun wiederholten chromatographischen Prüfung der Citrusöle, bei der die isolierten Flavone zum Vergleich mitliefen, wurden die durch spektralphotometrische Messungen begründeten Annahmen bestätigt. In vier Systemen zeigten

F_A und 3.3'.4'.5.6.7.8-Heptamethoxyflavon, F_B und Tangeretin und auch F_C und Nobiletin übereinstimmende Rf-Werte (s. Tab. 3).

Tabelle 3:

Chromatographischer Vergleich der Verbindungen F_A, F_B und F_C mit 3.3'.4'.5.6.7.8-Heptamethoxyflavon (I), Tangeretin (II) und Nobiletin (III)

System	Rf - Werte					
	F _A	I	F _B	II	F _C	III
A	0, 76	0, 76	0, 72	0, 72	0, 64	0, 64
B	0, 31	0, 31	0, 30	0, 30	0, 19	0, 19
C	0, 71	0, 71	0, 57	0, 57	0, 64	0, 64
D*	0, 64	0, 64	0, 57	0, 57	0, 41	0, 41

*: Bei der Errechnung der Rf - Werte wurde die Fleckfront zugrunde gelegt.

Systeme:

- A. DC (Kieselgel G): Benzol/Essigester/Aceton/Wasser
= 40:40:20:1
- B. DC (Kieselgel G): Benzol/Essigester/(Eisessig)
= 70:30:(2 Tropfen)
- C. DC (Polyamid-Zellulose): Methanol/Formamid/Wasser
= 60:30:15
- D. PC: Hexan/Chloroform/Formamid = 90:10:10 (Oberphase)

Aus der Tabelle 4 ist ersichtlich, daß die Flavonführung der geprüften Citrusfrüchte überraschend einheitlich ist.

Tabelle 4:

Verteilung der lipophilen Flavone auf die untersuchten Citrusarten

Citrusfrucht	Heptamethoxy flavon	Tangeretin	Nobiletin
Apfelsine	+	+	+
Grapefruit	+	(+)	+
Mandarine	+	+	+
Clementine	+	+	+
Zitrone	-	-	-

Das Heptamethoxyflavon, das innerhalb der untersuchten Arten nur aus Orangen bekannt war (SWIFT, 1965; TATUM, 1965) und Nobiletin sind durchgehend im ätherischen Öl der Apfelsine, Grapefruit, Mandarine und Clementine vorhanden. Mandarine und Clementine enthalten zusätzlich in deutlich nachweisbarer Menge Tangeretin. Der Nachweis dieses Flavons in direkt aus den Exkretbehältern entnommenen ätherischem Öl von Apfelsine und Grapefruit war nicht vollkommen sicher. Offenbar ist die Konzentration des Tangeretins so gering, daß es dem Nachweis auf diesem Wege entgeht. Der Nachweis des Tangeretins ist auch deshalb erschwert, weil seine Eigenfluoreszenz im langwelligen UV - Licht schwächer als die der anderen Flavone ist. Seine Nachweisgrenze (1µg) liegt aus diesem Grunde doppelt so hoch wie die von Nobiletin und Heptamethoxyflavon. Das Vorhandensein von Tangeretin im ätherischen Öl der Apfelsine ist durch die Isolierung dieser Substanz aus dem Destillationsrückstand von Orangenöl ge-

sichert (die gewonnenen Mengen von Tangeretin und 3.3'.4'.5.6.7.8-Heptamethoxyflavon verhalten sich wie 1:6).

Eine Ausnahmestellung unter den untersuchten Citrusfrüchten nimmt die Zitrone ein, in deren Exkret kein lipophiles Flavon nachzuweisen war. Lipophile Flavone kommen in Citrus limon anscheinend überhaupt nicht vor. Alle bisher aus dieser Art isolierten Verbindungen unterscheiden sich zwar zum Teil im Substitutionsmuster nicht von denen der anderen Citrusarten, sie sind jedoch im Unterschied zu diesen hydrophil und liegen als Glykoside vor.

Für unsere Fragestellung war auch von Bedeutung, ob die lipophilen Flavone nur in der Flavedoschicht, in der sich die Exkretbehälter befinden oder auch in anderen Geweben vorkommen. Gleichzeitig sollte geprüft werden, ob das Hesperidin, das nach unserer Annahme nur chymotrop ausgeschieden wird, im ätherischen Öl wirklich fehlt. Dazu wurden methanolische Extrakte der Flavedo- und Albedoschicht, der Pulpa, ferner der Fruchtsaft und das Exkret von Orangen chromatographisch geprüft. Es zeigte sich, daß das Vorhandensein lipophiler Flavone in der Tat auf die Exkretbehälter bzw. die Flavedoschicht beschränkt ist. Im Albedoextrakt waren Spuren der lipophilen Flavone zu entdecken, die wahrscheinlich bei der Abtrennung der Flavedoschicht durch auslaufendes Öl aus verletzten Exkretbehältern auf die Albedoschicht gelangt waren. Hesperidin dagegen war überall im Gewebe, nicht aber im Exkret nachzuweisen. (S. Tab. 5).

Tabelle 5:

Verteilung der lipophilen Flavone und des Hesperidins auf die verschiedenen Teile der Apfelsine (*Citrus sinensis*).

(Tabelle 5)

Untersuchungs- material	nachgewiesene Verbindungen	
	lipophile Flavone	Hesperidin
Exkret	+	-
Flavedo	+	+
Albedo	(+)	+
Pulpa	-	+
Fruchtsaft	-	+

2. Das lipophile Flavon F_K aus *Matricaria chamomilla*

=====

In der Kamille waren lipophile Flavone bisher nicht gefunden worden. Die Untersuchung dieser Droge hatte mit der Prüfung zu beginnen, ob solche Flavone überhaupt vorhanden sind. Zu orientierenden Vorversuchen wurden deshalb Kamillenblüten mit Petroläther und nachfolgend mit Benzol extrahiert. Diese Extrakte wurden dünnschichtchromatigraphisch geprüft: Der Petrolätherauszug war flavonfrei. Im Benzolextrakt waren permethylierte Flavone nicht nachzuweisen. Aus den Chromatogrammen war jedoch ersichtlich, daß möglicherweise 4 Flavone, die nach ihrem dünnschichtchromatographischen Verhalten Aglyka sein mußten, im Benzolextrakt vorlagen. Die Hydrolyse des Extrakts bestätigte, daß es sich tatsächlich um Aglyka handelte. Die Substanz mit dem größten R_f - Wert in Polyamidsystemen erhielt den Arbeitsnamen F_K .

2.1 Isolierung des Flavons F_K

Die Vortrennung des Benzolextrakts und Anreicherung an F_K ist auf zwei Wegen möglich: Ein Weg führt über die Säulenchromatographie an Polyamid. Mit Benzol wird die Säule entwickelt und dabei neben anderen Begleitstoffen das Chlo-

rophyll abgetrennt. Durch Abstufung des Fließmittels mit Essigester und Methanol gelingt es, Fraktionen aufzufangen, in denen die Hauptmenge der Flavone vorhanden ist. Einfacher jedoch gestaltet sich die Vortrennung, wenn man den konzentrierten Benzolextrakt mit verdünnter (5 %iger) wäßriger Natronlauge ausschüttelt. Da die Phasen sich bei diesem Vorgang schlecht entmischen, arbeitet man mit kleinen Portionen. Durch Einsetzen einer Apparatur für CRAIG - Verteilungen (mehrere Batterien mit jeweils 4 Elementen) lassen sich in kurzer Zeit größere Mengen Extrakt aufarbeiten. Nach Ansäuern der alkalischen Auszüge und Ausschütteln mit Essigester besitzt man eine ähnlich zusammengesetzte, flavonangereicherte Fraktion, wie die auf chromatographischem Wege gewonnene.

Der Vortrennung schließt sich eine säulenchromatographische Trennung an Kieselgel an. Man gewinnt dabei F_K in relativ reiner Form. Durch mehrmaliges Umkristallisieren erhält man F_K in feinen, hellgelben Nadeln vom Schmelzpunkt 183 - 184°. Die Ausbeute beträgt etwa 60 mg / 100, bezogen auf die lufttrockene Droge. Es gelang nicht, die entdeckten drei anderen Flavone zu isolieren oder näher zu charakterisieren. Da sie offenbar hydrophiler sind als F_K , waren sie das Thema der Arbeit von geringerem Interesse.

2.1.1 Abschätzung des Gehalts von F_K in der Droge

Bei der Aufarbeitung des Extrakts zur Isolierung von F_K geht erfahrungsgemäß ein Teil der Substanz verloren. Um wenigstens einen groben Anhaltspunkt zu haben, in welcher Menge das Flavon nativ in der Droge vorliegt, wurde der Gehalt mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie mit einer Verdünnungsreihe von reinem F_K näherungsweise ermittelt. Zur Auswertung wurden die Größe und vor allem die Farbintensität der Flecke herangezogen. Auf diesem Wege wurde ein ursprünglicher Gehalt von etwa 200 mg F_K pro Kilogramm Droge festgestellt.

2.2 Identifizierung von F_K

2.2.1 Charakterisierung durch analytische Methoden:

Das UV-Spektrum von F_K zeigte einen für Flavone typischen Verlauf. Die Absorptionsmaxima liegen bei den Wellenlängen $\lambda_{\max}$ 258 nm (lgε: 4.25), 271 nm (lgε: 4.21) und 352 nm (lgε: 4.35). Die Daten der Elementaranalyse und der Methoxylbestimmung sprachen für das Vorliegen eines Tetramethoxyflavons der Bruttoformel C₁₉ H₁₈ O₈ (374,3). Zur Klärung der Position der beiden Hydroxylgruppen und der 4 Methoxylgruppen wurden folgende Versuche unternommen:

Der Alkaliabbau unter milden Bedingungen (siedende äthanolische Kalilauge) durchgeführt, gestattet gleich zwei Aussagen: Unter diesen Bedingungen werden nur Flavonole gespalten, deren 3 - Hydroxygruppe alkyliert ist. Im Falle der Spaltbarkeit läßt sich das Substitutionsbild des Ringes B feststellen.

F_K ließ sich tatsächlich durch mehrstündiges Kochen mit 20 %iger äthanolischer Kalilauge spalten. Damit war klar, daß ein in 3-Stellung methyliertes Flavonol vorlag. Eins der Spaltprodukte wurde chromatographisch eindeutig als Vanillinsäure identifiziert. Dem Ring B war also eine 3' - Methoxy - 4' - hydroxy - Substitution zuzuschreiben.

Die Festlegung der übrigen Substituenten war nun nicht mehr schwierig. Die zweite Hydroxylgruppe durften wir aus biogenetischen Gründen in der 5 - Stellung erwarten, die dritte Methoxylgruppe aus denselben Gründen in üblicher Position am C - 7 (Phloroglucinmuster des A-Ringes). Somit war letztlich zu klären, ob die letzte Methoxygruppe sich am C-6 oder C-8 - Atom des Chromongerüsts befand, ob unsere Substanz also ein Flavon vom Typ des Gossypetins oder des Quercetagetins war. Diese Frage läßt am einfachsten durch vollständige Methylierung und Vergleich mit den bekannten Hexamethylderivaten beantworten.

F_K wurde mit Diazomethan methyliert. Darauf konnte chromatographisch nachgewiesen werden, daß die beiden bei der Methylierung entstandenen Produkte mit Artemetin (3.3'.4'.6.7-Pen-

tamethylquercetagenin) und Hexamethylquercetagenin identisch waren.

Damit ergab sich für den neuen Kamilleninhaltsstoff die Konstitution eines 4'.5-Dihydroxy-3.3'.6.7-tetramethoxyflavons.

Ein Flavon dieser Konstitution ist unter dem Namen Polycladin (aus *Lepidophyllum quadrangulare* L.) bereits von MARINI-BETTOLO (1957) beschrieben worden. Die von diesem Autor angegebenen Daten weichen jedoch erheblich von unseren ab (s. Tab.6). Eine Probe des Polycladins konnte uns zu Vergleichszwecken nicht zur Verfügung gestellt werden. Zur Sicherung unserer Ergebnisse mußte das dem Naturstoff entsprechende Flavon synthetisiert werden.

Tabelle 6:

Vergleich einiger Analysendaten von Polycladin und F_K

	Polycladin	F _K
Schmelzpunkt	203°	183-184°
Schmelzpunkt des Diacetats	162°	196-197°
UV-Spektrum	$\lambda_{\max}$: 258 nm (4.31) 274 nm (4.29) 365 nm (4.26)	$\lambda_{\max}$: 258 nm(4.25) 271 nm(4.21) 352 nm(4.35)

2.2.2 Synthese des 4'.5-Dihydroxy-3.3'.6.7-tetramethoxyflavons:

Die Synthese konnte in Anlehnung an eine kurz zuvor veröffentlichte Vorschrift zur Darstellung von Casticin

(HÖRHAMMER und Mitarbeiter, 1964) erfolgen. Sie ging vom 2-Hydroxy-4.5.6-trimethoxyacetophenon aus, das mit dem Benzyläther des Vanillins zum 6'-Hydroxy-2'.3'.3.4'.tetramethoxy-4-benzyloxychalkon in stark alkalischem Milieu kondensiert wurde. Die Oxydation des Chalkons nach ALGAR-FLYNN (1934) und OYAMADA (1934) mit Natriumperoxyd führte zum 3-Hydroxy-3'.5.6.7-tetramethoxy-4'-benzyloxyflavon. In weiteren Reaktionsschritten wurde die Hydroxylgruppe am C³ methyliert, der Benzylrest durch katalytische Hydrierung eliminiert und schließlich durch partielle Entmethylierung (C⁵) mit Aluminiumchlorid in Äther als Endprodukt 4'.5-Dihydroxy-3.3'.6.7-tetramethoxyflavon gewonnen.

Die gesamte Reaktionsfolge, einschließlich der Darstellung der Ausgangsprodukte (2-Hydroxy-4.5.6-trimethoxyacetophenon und Vanillin-4-benzyläther) ist auf der Seite 53 in Formeln dargestellt.

Das Syntheseprodukt stimmte in allen geprüften Eigenschaften mit der natürlichen Verbindung F_K überein (s. Tab. 7). Seine Konstitution ist damit bewiesen:

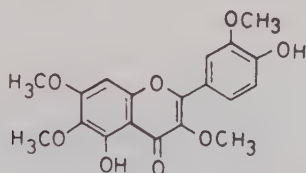


Abb. 9: Das Flavon F_K (=4'.5-Dihydroxy-3.3'.6.7-tetramethoxyflavon)

Das Polycladin muß demnach eine andere Konstitution besitzen. Zu dem gleichen Schluß kommen auch HÖRHAMMER und Mitarbei-

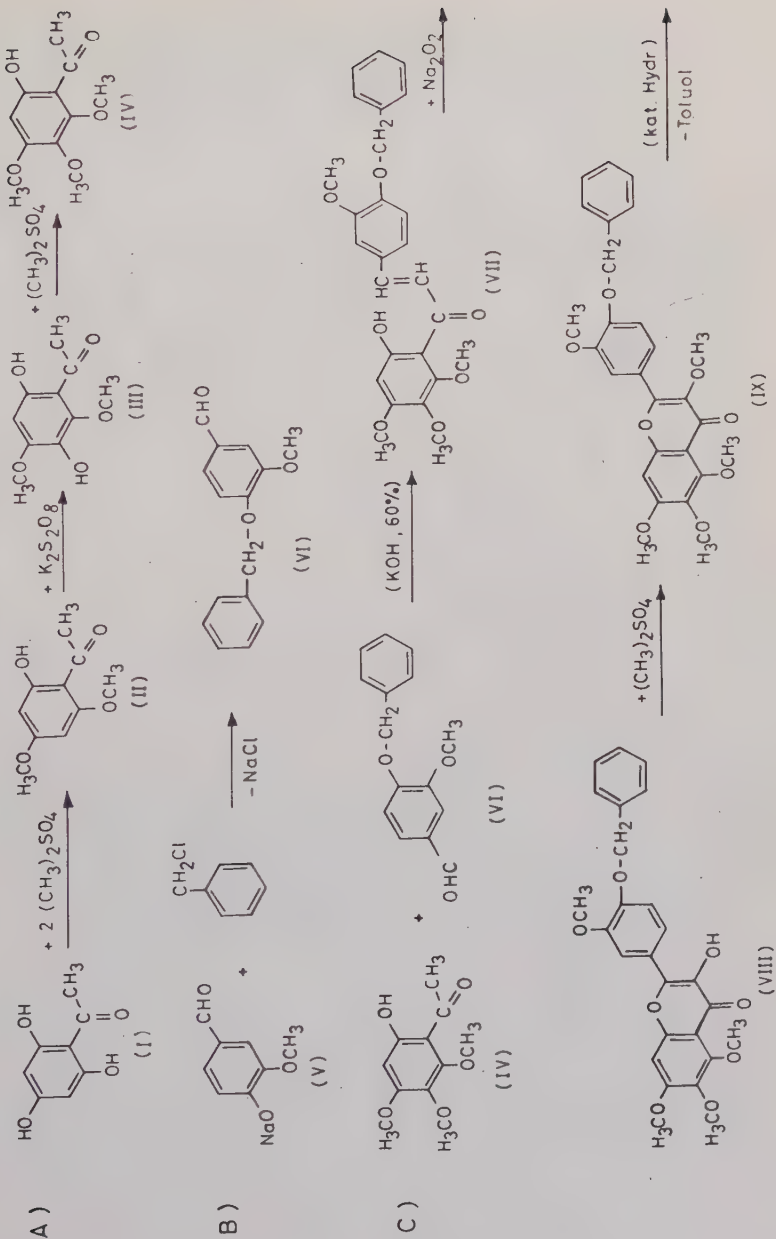
ter (1965), die kurz vor Abschluß unserer eigenen Arbeit ebenfalls eine Synthese des 4'.5-Dihydroxy-3.3'.6.7-tetramethoxyflavons veröffentlichten. Die Angaben dieser Autoren über physikalische Konstanten der Endverbindung und der Zwischenprodukte der Synthese stimmen in übrigen mit unseren Werten gut überein.

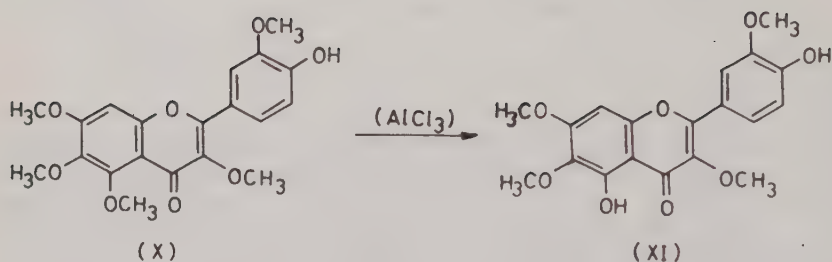
Tabelle 7:

Vergleich analytischer Daten der Substanz F_K (I) mit denen des synthetisch gewonnenen 4'.5-Dihydroxy-3.3'.6.7-tetramethoxyflavons (II)

	I	II
Schmelzpunkt	183-184°	183-184°
Mischschmelzpunkt	183-184°	
Schmelzpunkt der Diacetate	196-197°	196-197°
Mischschmelzpunkt der Diacetate	195-196°	
UV-Spektrum	$\lambda_{\max}$: 258, 271, 352 nm $\lg \epsilon_{\max}$: 4.25, 4.21, 4.35	$\lambda_{\max}$: 258, 271, 352 nm $\lg \epsilon_{\max}$: 4.25, 4.21 4.35
	Der Kurvenverlauf ist identisch im Bereich von 220 bis 380 nm	
UV-Spektrum der Diacetate	$\lambda_{\max}$: 240, 320 nm $\lg \epsilon_{\max}$: 4.34, 4.39	$\lambda_{\max}$: 240, 320 nm $\lg \epsilon_{\max}$: 4.34, 4.39
	Der Kurvenverlauf ist identisch im Bereich 220 bis 380 nm	

Abbildung 10: Synthese des 4',5-Dihydroxy-3,3',6,7-tetramethoxyflavons





- I = Phloracetophenon
- II = 4.6-Dimethylphloracetophenon
- III = 2.5-Dihydroxy-4.6-dimethoxyacetophenon
- IV = 2-Hydroxy-4.5.6-trimethoxyacetophenon
- V = Vanillin-Natrium
- VI = Vanillin-benzyläther
- VII = 6'-Hydroxy-2'.3'.3.4'-tetramethoxy-4-benzyloxychalkon
- VIII = 3-Hydroxy-3'.5.6.7-tetramethoxy-4'-benzyloxyflavon
- IX = 3.3'.5.6.7-Pentamethoxy-4'-benzyloxyflavon
- X = 4'-Hydroxy-3.3'.5.6.7-pentamethoxyflavon
- XI = 4'.5-Dihydroxy-3.3'.6.7-tetramethoxyflavon

Abbildung 11: IR - Spektren des natürlichen 4'.5-Dihydroxy-3.3'.6.7-tetramethoxyflavons (obere Kurve) und der synthetischen Verbindung (untere Kurve)

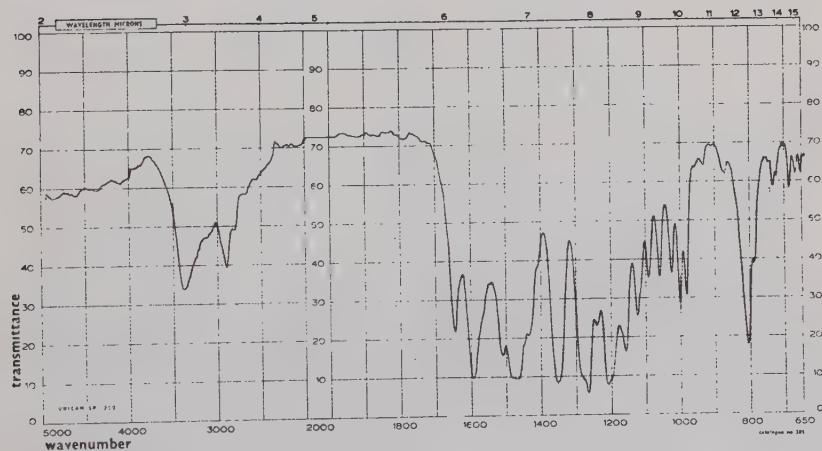
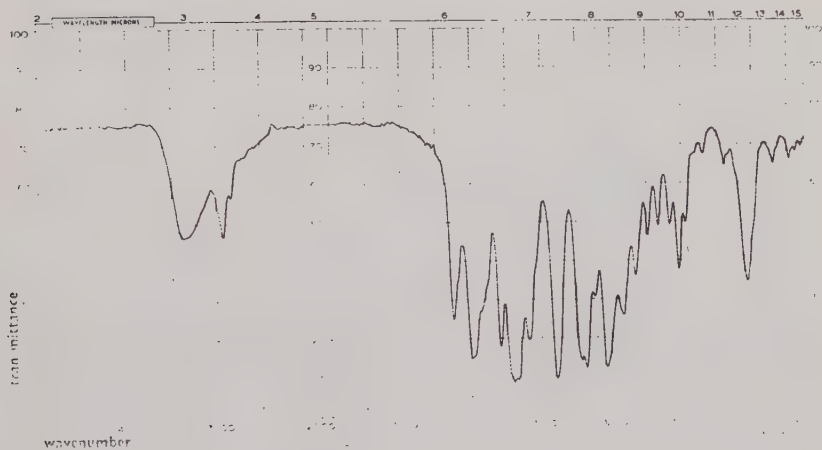


Abbildung 12: UV - Spektren des natürlichen 4'.5-Dihydroxy-3.3'.6.7-tetramethoxyflavons und der synthetischen Verbindung

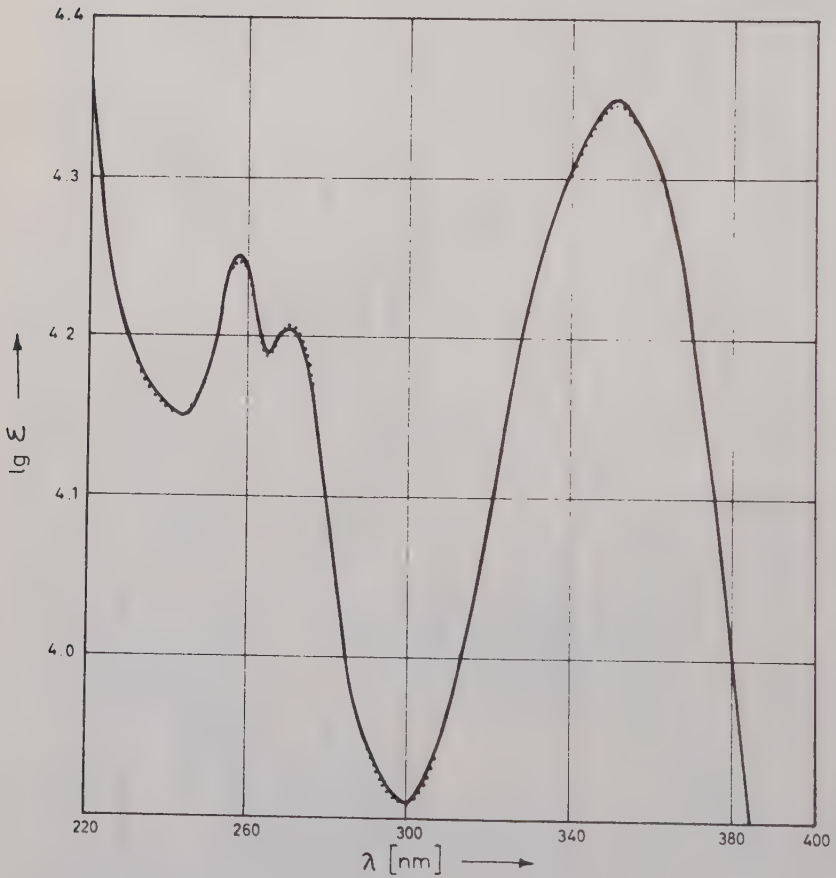


Abbildung 13: IR - Überlagerungsspektrum der Diacetate von natürlichem und synthetischem 4'.5-Dihydroxy-3.3'.6.7-tetramethoxyflavon

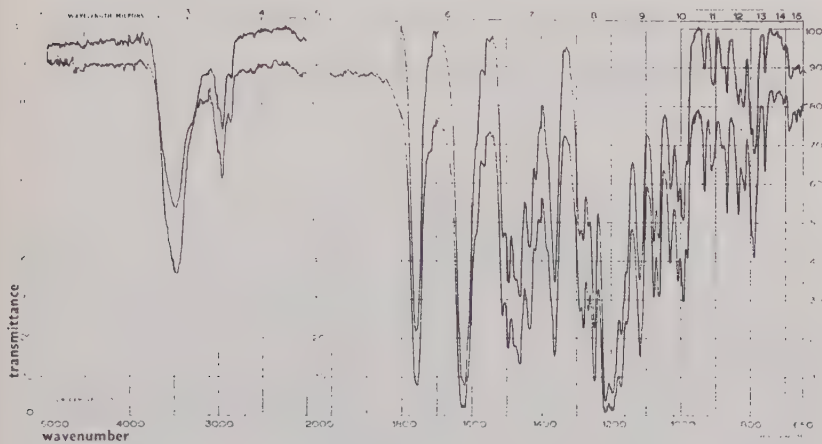
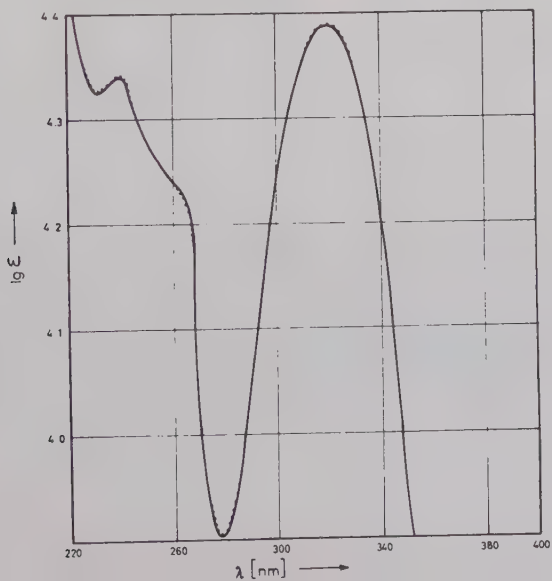


Abbildung 14: UV - Spektren der Diacetate von natürlichem und synthetischem 4'.5-Dihydroxy-3.3'.6.7-tetramethoxyflavon



- In weiteren Untersuchungen waren noch folgende Fragen zu klären: (a) die Lokalisation des F_K (und hydrophiler Flavone) in der Pflanze,
- (b) Prüfung von *Matricaria chamomilla* verschiedener Herkunft auf das Vorhandensein von F_K und
- (c) Prüfung verwandter Arten auf das Vorkommen von F_K .

2.3 Die Lokalisation des F_K in der *Matricaria chamomilla*:

Die Lokalisationsfrage ließ sich selbstverständlich nicht in ähnlich einfacher Weise wie bei den Citrusfrüchten lösen, denn die Hauptmenge des ätherischen Öls befindet sich in winzigen Drüsenhaaren an den Blüten. Durch die dünnschichtchromatographische Untersuchung von Benzolextrakten isolierter Teile der Kamille (Wurzel, Stengel und Blätter, Blütenboden, Röhrenblüten und Randblüten) konnte aber gezeigt werden, daß F_K an den Stellen in der Pflanze zu finden ist, an denen auch die Hauptmenge des ätherischen Öls abgelagert wird. Es war nur in den Benzolextrakten der Röhrenblüten und der Randblüten nachweisbar. Damit gewinnt die gemeinsame Ausscheidung des F_K mit dem ätherischen Öl in die Kutikularblase an Wahrscheinlichkeit. Interessanterweise findet sich F_K nicht im Blütenboden, der im Gegensatz zu den Blüten das ätherische Öl in schizogenen Ölbehältern ablagert. Dieses Verhalten findet seine Parallele bei den Proazulenen, die nur in den Drüsenhaaren vorkommen.

Im Anschluß an die Benzolextraktion wurden noch Acetonauszüge der Pflanzenteile hergestellt und auf Flavonvorkommen untersucht. In den Acetonextrakten erwarteten wir, die chymotrop ausgeschiedenen Flavone zu finden. Die Prüfung dieser Extrakte sollte daher ein Bild über die Verteilung der hydrophilen Flavone auf die einzelnen Pflanzenteile geben.

Die dc Untersuchungen der Benzol- und Acetonextrakte brachten im einzelnen folgende Ergebnisse:

Die Wurzel der Kamille erwies sich als praktisch flavonfrei, weder im B e n z o l - noch im A c e t o n - extrakt waren Flavone nachweisbar.

Der B e n z o l extrakt von Stengeln und Blättern, ebenso der des Blütenbodens enthielten keine Flavone. In den A c e t o n extrakten konnte Luteolin-7-glucosid nachgewiesen werden.

Die Hauptmenge der Flavone ist in den Blüten enthalten. Im B e n z o l extrakt der Röhrenblüten wurden F_K und drei weitere, nicht näher charakterisierte Flavonaglyka entdeckt (s. Chromatogrammschema S.87, Flecke $F = F_K$; G, H, J). Im A c e t o n extrakt zeigte sich erwartungsgemäß ein breites Spektrum von Polyhydroxyflavonen (als solche ausgewiesen durch Bildung lebhaft gefärbter Verbindungen mit Diphenylborsäure-aminoäthylester-Komplex). Von den neun im Chromatogramm des Acetonauszugs sichtbaren Flavonen konnten vier, nämlich Apigenin (Fleck L), Luteolin (Fleck M) und die 7-Glucoside beider Verbindungen (Flecke C und D) identifiziert werden. Nach der Hydrolyse des Acetonextraktes mit 2n-HCl verschwanden außer den Flecken C und D zwei weitere (R_f - Werte über 0,5) der ursprünglich vorhandenen Chromatogrammflecke. Dafür trat als neues Aglykon Quercetin auf.

Der B e n z o l extrakt der Randblüten enthielt F_K und ein zweites Aglykon (Fleck G). Beide hatten wir schon in den Röhrenblüten angetroffen. Ihre Konzentration in den Randblüten war erheblich geringer. Auch der A c e t o n - auszug der Randblüten steht dem der Röhrenblüten an Mannigfaltigkeit der Flavonführung nach. Er enthält nur Apigenin und Glykoside dieser Verbindung. Nach der Hydrolyse des Acetonextrakts ist nur noch Apigenin nachweisbar. Wir stimmen hierin mit Ergebnissen von TYIHAK und Mitarbeitern (1962) überein, die in den Randblüten ebenfalls nur Apige-

ninderivate gefunden hatten, konnten jedoch statt der 6 von diesen Autoren nachgewiesenen Apigeninglykoside nur 3 und das Aglykon finden. Eins der Glykoside wurde als Apigenin-7-glucosid identifiziert.

2.4 Untersuchung von Flores Chamomillae verschiedener Herkunft auf das Vorkommen von F_K :

Die Untersuchung von Kamillen verschiedener Herkunft sollte Auskunft geben, ob chemische Variabilität innerhalb der Art hinsichtlich des Vorhandenseins von F_K vorliegt. Diese Möglichkeit war schon deshalb nicht ausgeschlossen, weil bei *Matricaria chamomilla* eine solche Variabilität bereits bekannt ist: Es existieren chemische Rasse, in deren ätherischem Öl Chamazulenbildner völlig fehlen.

Die Untersuchung ergab keine Anhaltspunkte für eine Variabilität hinsichtlich des Vorkommens von F_K . In sechs verschiedenen Drogenproben, die aus Deutschland, Polen, Ungarn, Jugoslawien, Griechenland und Ägypten stammten, war durchgehend F_K vorhanden.

2.5 Untersuchung verwandter Arten auf das Vorkommen von F_K :

Es sollte geprüft werden, ob das Flavon F_K auch in *Matricaria chamomilla* verwandten Arten nachzuweisen ist. Untersuchungsobjekte waren die getrockneten Anthodien von *Matricaria discoidea* DC. (= *M. matricarioides* PORTER), die Strahllose Kamille, *Matricaria inodora* L., die Geruchlose Kamille, *Anthemis nobilis* L., die Römische Kamille und von der letzten Art auch die pharmazeutisch bedeutendere Zuchtform *Anthemis nobilis flore pleno*.

Die Methodik der Untersuchungen war die gleiche wie bei den vorangegangenen. Die getrockneten Blütenstände der angegebenen Pflanzen wurden mit Petroläther vorextrahiert, im Anschluß daran aber nur Benzolextrakte angefertigt. Eine Kontrollprobe mit offizinellen Flores Chamomillae

lief unter gleichen Bedingungen mit.

Die dünnschichtchromatographische Prüfung der Benzol-extrakte ergab, daß F_K in keiner der untersuchten Arten vorkommt (im Kontrollversuch positiv nachgewiesen). Bei diesen Kompositen fehlen lipophile Flavonaglyka überhaupt. Ob andere Quercetagerinderivate als F_K , Casticin oder Artemetin vorhanden sind, konnte aus Mangel an weiteren Vergleichssubstanzen nicht festgestellt werden.

V. Eigene Untersuchungen:

B. Experimenteller Teil

Allgemeines:

Für die Dünnschichtchromatographie wurden Platten von 20 x 20 cm Größe verwendet. Sie wurden mit dem Streichgerät nach STAHL (Firma DESAGA) beschichtet. Die Schichtdicke der Sorptionsmittel betrug ca. 0,3 mm. Als Sorptionsmittel dienten Kieselgel G "Merck" und Polyamid für DC, "Merck", dem zur besseren Haftfähigkeit 15 % Zellulosepulver zugesetzt wurde. Die Polyamidplatten wurden in folgender Weise bereitet: 8,5 g Polyamid und 1,5 g Zellulose wurden mit einer Spatelspitze Leuchtpigment (ZS Super, Riedel de Haen AG.) in einer Mischung von 35 ml Methanol und 25 ml Chloroform suspendiert, die Suspension mit dem Streichgerät auf 5 Platten aufgetragen. Die Platten wurden nach fünfminütigem Antrocknen an der Luft durch Einstellen in den Trockenschrank (30 Minuten lang) bei 70° von den Flüssigkeiten befreit. Entwickelt wurde unter den von STAHL angegebenen Standardbedingungen.

Für die Papierchromatographie wurde das Papier Schleicher und Schüll Nr. 2043 BM in Bogen von 20 x 20 cm Größe verwendet. Es wurde aufsteigend entwickelt. Zur Trennung lipophiler Flavone wurde das Papier mit einer 50 %igen Lösung von Formamid in Aceton imprägniert, der Überschuß an Formamid wurde nach dem Verdunsten des Acetons zwischen Zellstofflagen abgepreßt.

Konzentrations- und Verhältnisangaben bei Laufmitteln für die Chromatographie beziehen sich auf Volumina (v/ v).

Die Mikroanalysen wurden ausgeführt im Mikroanalytischen Laboratorium A. Bernhardt, Institut für Kohleforschung, Mühlheim/Ruhr; im Mikroanalytischen Laboratorium Ilse Beetz, Kronach und im Analytischen Kontrolllabor der Firma Schering AG., Berlin*.

*Wir danken Herrn Dipl.-Ing. J. Huber, Leiter des Analytischen Kontrolllabors der Firma Schering AG., Berlin, für die Durchführung der Analysen.

Die UV-Spektren wurden mit einem Zeiss - Spektrophotometer PMQ II aufgenommen (Quarzküvetten von 1,000 cm Durchmesser.) Die IR - Spektren wurden mit einem Unicam - Spektrophotometer SP. 200 aufgenommen (KBr - Preßlinge).

Die Schmelzpunkte wurden auf einem Kofler - Heiztischmikroskop bestimmt; sie sind nicht korrigiert.

1. Die lipophilen Flavone in den Früchten der Citrusarten

1.1 Herkunft der Citrusfrüchte:

Die Citrusfrüchte wurden aus dem Handel bezogen (Herkunfts-länder: Citrus sinensis - Spanien, Südafrika; Citrus reticulata, auch Clementine - Marokko; Citrus paradisi - Israel; Citrus limon - Italien).

1.2 Gewinnung und Chromatographie des ätherischen Öls:

Das ätherische Öl wurde durch Anstechen der Exkretbehälter mit einer Kapillare gewonnen, deren Durchmesser etwa halb so groß wie der der Ölräume war. Es wurde direkt auf die Chromatogramme aufgetragen. Die flüchtigen Anteile wurden im Warmluftstrom weitgehend vertrieben. Pro Startfleck mußten ca. 40 Exkretbehälter angestochen werden. Ätherisches Öl, das man durch vorsichtiges Pressen der Fruchtschale gewinnt, unterscheidet sich chromatographisch nicht von dem durch eine Kapillare entnommenen.

Laufmittel und Ergebnisse der chromatographischen Untersuchung s. S. 44.

1.3 Trennung und UV-Spektren der lipophilen Flavone

Auf zwei Kieselgel G - Platten wurde das durch Auspressen von Mandarinschalen gewonnene Exkret bandförmig auf die Startlinie aufgetragen und nachdem die leicht flüchtigen

Anteile im Warmluftstrom vertrieben waren, mit dem Fließmittel Benzol - Essigester = 70:30 entwickelt. Nach kurzem Trocknen (Föhn) wurde der Entwicklungsvorgang wiederholt. Aus den Chromatogrammen wurden zwei Substanzzonen herausgekratzt. Die obere enthielt F_A und F_B , die untere F_C . Die Kieselgeladsorbate wurden mit je 5 ml Methanol 20 Minuten lang bei ca. 40° digeriert, anschließend wurde vom Kieselgel abfiltriert. Die auf 0,5 ml eingeeengten Methanollösungen wurden nun auf je eine mit Polyamid beschichtete Platte aufgetragen, und es wurde mit dem Fließmittel Methanol - Formamid - Wasser = 60 : 30 : 15 entwickelt. Danach wurden die Platten zur Entfernung des Fließmittels eine Stunde lang bei 100° getrocknet. Die scharf getrennten Substanzzonen F_A und F_B bzw. F_C wurden herauspräpariert, 15 Minuten lang bei Zimmertemperatur mit Methanol p. a. digeriert und dann klar filtriert. Diese Methanollösungen wurden zur Aufnahme des UV-Spektrums eingesetzt. Als Vergleichslösung diente ein aus den Polyamidchromatogrammen gewonnener Methanolextrakt von substanzfreiem Polyamid. Die Ergebnisse der UV-Spektrophotometrie sind in der Tabelle 2, S.42 zusammengefaßt.

1.4 Isolierung von 3.3'.4'.5.6.7.8-Heptamethoxyflavon, Nobiletin (3'.4'.5.6.7.8-Hexamethoxyflavon) und Tangeretin (4'.5.6.7.8-Pentamethoxyflavon)

10 g Orangenöl - Destillationsrückstand* wurden in 10 ml Benzol aufgenommen. Diese Lösung wurde auf eine Säule von 250 g Aluminiumoxyd neutral, Aktivitätsstufe I "Woelm" (Säulenabmessungen: 4,5 x 20 cm) gegeben und zunächst mit Benzol entwickelt und eluiert. Das Eluat wurde in Fraktionen zu 10 ml aufgefangen. Die Benzol-, sowie die darauf folgenden Benzol - Äther - Fraktionen und die Äther - Fraktionen ent-

* Der Firma Dragoco, Holzminden, danken wir für die Überlassung dieses Produkts.

hielten keine Flavone (DC - Prüfung von Fraktionsproben bzw. Prüfung von Fraktionsproben durch Reduktion mit Magnesium und konzentrierter Salzsäure). Die Elution der Flavone gelang erst mit reinem Essigester. Die Tabelle 8 gibt einen Überblick über den Elutionsverlauf.

Tabelle 8:

Elutionsverlauf eines Orangenöl - Destillationsrückstandes an Aluminiumoxyd neutral, Aktivitätsstufe I.

Elutionsmittel	Fraktion Nr.	Volumen (ml)	Flavonführung
Benzol	1 - 3	300	-
Benzol/Äther 80 / 20	4 - 5	200	-
Benzol/Äther 50 / 50	6 - 7	200	-
Äther	8 - 9	200	-
Äther/Essigester 80 / 20	10 - 11	200	-
Äther/Essigester 50 / 50	12	100	-
Essigester	13	100	-
	14 - 20	700	+

Das Dünnschichtchromatogramm (Polyamid/Zellulose, Fließmittel: Methanol - Formamid - Wasser = 60:30:15) zeigte in den flavonhaltigen Fraktionen drei Substanzen an. Alle Fraktionen enthielten Mischungen der drei Flavone.

Die Fraktionen 14 - 20 wurden vereinigt, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck vertrieben. Danach verblieb ein gelb-braun gefärbter Rückstand von 450 mg. Dieser Rückstand wurde in Benzol gelöst und erneut an 25 g Aluminiumoxyd chromatographiert (Säulenmaße: 2,5 x 9 cm). Entwickelt wurde zunächst wiederum mit Benzol, dann mit Benzol - Essigester - Gemischen (mit steigendem Essigesteranteil) und schließlich wurde mit reinem Essigester eluiert. Das Fraktionsvolumen betrug 10 ml. Nach dünnschichtchromatographischer Prüfung ließen sich die Essigester-Fraktionen in zwei Gruppen einteilen. Die ersten Fraktionen enthielten nur 3.3'.4'.5.6.7.8-Heptamethoxyflavon:

Nach Entfernung des Lösungsmittels und zweimaligem Umkristallisieren aus Benzol/Petroläther erhielt ich 125 mg farbloser Kristallnadeln vom Schmelzpunkt 130 - 131°. Der Mischschmelzpunkt mit einer Vergleichssubstanz* war nicht erniedrigt.

Die anderen Fraktionen enthielten Mischungen von Nobiletin und Tangeretin (Rückstand 100 mg). Die Trennung dieser Flavone gelang durch präparative Dickschichtchromatographie: Eine Glasplatte 20 x 20 cm wurde mit einer Suspension von 25 g Kieselgel H "Merck" in 60 ml Wasser beschichtet (Schichtdicke ca. 2 mm). Die Platte wurde 12 Stunden an der Luft getrocknet, dann 2 Stunden bei 110° aktiviert.

Das in wenig Benzol gelöste Flavongemisch wurde bandförmig auf die Startlinie aufgetragen und mit Benzol - Essigester = 70:30 entwickelt. Durch dreimalige Wiederholung des Entwicklungsvorganges ließen sich beide Substanzen ausgezeichnet

* Wir danken Herrn Prof. Dr. H. Böhme für die Überlassung einer Probe 3.3'.4'.5.6.7.8-Heptamethoxyflavon

von einander trennen. Die Kieselgeladsorbate der herauspräparierten Substanzzonen wurden im Soxhlet mit Methanol-Aceton (70:30) 30 Minuten lang extrahiert. Aus den entsprechenden Extrakten konnten nach Umkristallisieren aus Benzol / Petroläther Nobiletin und Tangeretin in reiner Form gewonnen werden.

Nobiletin: farblose Kristallnadeln, Schmelzpunkt 138 - 139°. Der Mischschmelzpunkt mit einer Vergleichssubstanz* war nicht erniedrigt. Die Ausbeute betrug 35 mg.

Tangeretin: farblose Kristallnadeln, Schmelzpunkt 154 - 155° (STOUT, 1961: 152,5 - 155°). Die Ausbeute betrug 20 mg.

Tabelle 9:

Farbreaktionen von 3.3'4'.5.6.7.8-Heptamethoxyflavon (I), Nobiletin (II) und Tangeretin (III) bei der Reduktionsprobe nach SHINODA (1928).

Substanz	Farbe nach Behandlung mit Mg / HCl (conc.)
I	rot
II	gelb - orange
III	rot - orange

* Wir danken Herrn L. J. Swift für die Überlassung einer Probe Nobiletin.

Elementaranalysen:

a. 3.3'.4'.5.6.7.8-Heptamethoxyflavon



Gef.: C 60,78; H 5,74; OCH_3 49,11

Ber.: C 61,10; H 5,60; OCH_3 50,24

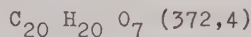
b. Nobiletin (3'.4'.5.6.7.8-Hexamethoxyflavon)



Gef.: C 63,07; H 5,59; OCH_3 45,68

Ber.: C 62,68; H 5,51; OCH_3 46,32

c. Tangeretin (4'.5.6.7.8-Pentamethoxyflavon)



Gef.: C 64,32; H 5,62; OCH_3 41,02

Ber.: C 64,50; H 5,41; OCH_3 41,67

UV - Spektren:

a. 3.3'.4'.5.6.7.8-Heptamethoxyflavon

λ_{max} : 254, 270*, 342 nm

ϵ_{max} : 22 400, 18 400, 23 500 $1 \text{ Mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

$\lg \epsilon_{max}$: 4.35, 4.26, 4.37

* Inflexion

$$c = 1,14 \cdot 10^{-2} \text{ g l}^{-1} = 2,64 \cdot 10^{-5} \text{ Mol l}^{-1} \text{ in Methanol}$$

b. Nobiletin

λ_{max} : 248, 271, 332 nm

ϵ_{max} : 19 500, 17 400, 25 700 $1 \text{ Mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

$\lg \epsilon_{max}$: 4.29, 4.24 4.41

$$c = 1,44 \cdot 10^{-2} \text{ g l}^{-1} = 3,58 \cdot 10^{-5} \text{ Mol l}^{-1} \text{ in Methanol}$$

c. Tangeretin

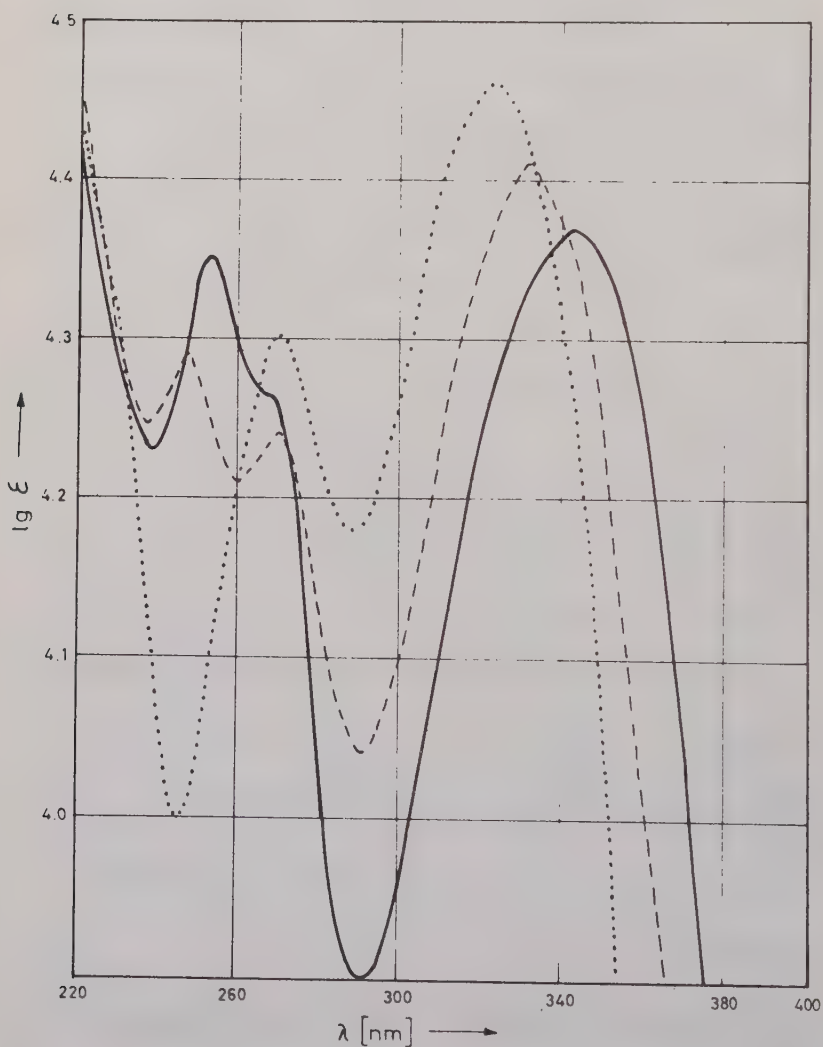
λ_{max} : 271, 323, nm

ϵ_{max} : 19 900, 28 900 $1 \text{ Mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

$\lg \epsilon_{max}$: 4.30, 4.46

$$c = 1,12 \cdot 10^{-2} \text{ g l}^{-1} = 3,01 \cdot 10^{-5} \text{ Mol l}^{-1} \text{ in Methanol}$$

Abbildung 15: Kurvenverlauf der UV - Spektren von
3.3'.4'.5.6.7.8-Heptamethoxyflavon (—),
Nobiletin (- - -) und Tangeretin (.....)



1.5 Herstellung der Methanolextrakte der Fruchtteile von *Citrus sinensis*:

5 Orangen wurden geschält, die Schalen sorgfältig in Flavedo - und Albedoschicht getrennt. Aus dem Fruchtkern (Pulpa) wurde der Fruchtsaft abgepresst. Die getrockneten und grob gepulverten Fruchtteile: Flavedoschicht (25 g), Albedoschicht (30 g) und saftfreie Pulpa (20 g) wurden im Soxhlet zweimal 6 Stunden lang mit je 250 ml Methanol extrahiert. Die Methanolextrakte wurden auf 20 ml, der Fruchtsaft auf 50 ml eingeeengt und chromatographisch geprüft.

1.5.1 Chromatographie der Methanolextrakte und Nachweisreaktionen der Flavonoide:

Die chromatographische Prüfung der Methanolextrakte, des Fruchtsaftes (und des Exkrets) auf lipophile Flavone erfolgte in den auf Seite 44 angegebenen Systemen (Ergebnisse s. Tab. 5, S. 47). Behandelt man die entwickelten Chromatogramme mit HCl - Dämpfen, so werden die permethylierten Flavone im Tageslicht als gelb gefärbte Flecke sichtbar. Im langwelligen UV - Licht zeigen sie unterschiedliche Färbung: das 3,3',4',5,6,7,8-Heptamethoxyflavon erscheint mit hellbrauner, das Nobiletin mit braungelber und das Tangeretin mit dunkelbrauner Farbe.

Das Hesperidin wurde papierchromatographisch nachgewiesen; Fließmittel: (a) Butanol/Eisessig/Wasser = 40:10:50 (Oberphase); (b) Chloroform, wassergesättigt.

Als Sprühreagenz diente eine 1 %ige Lösung von Natriumborhydrid in Isopropanol. Nach Behandlung mit HCl - Dämpfen färbt sich das Hesperidin im Tageslicht rotviolett an.

2. Das lipophile Flavon F_K in Matricaria chamomilla

2.1 Die Isolierung des Flavons F_K aus den Blütenständen von Matricaria chamomilla L.

Die Droge wurde von der Firma Caesar und Loretz, Hilden bezogen. Sie wurde in Jugoslawien (Sommer 1964) geerntet.

1 kg Flores Chamomillae wurden im Soxhlet mit 5 l Petrol-äther (Kp 40-60°) 6 Stunden lang vorextrahiert. Danach wurde die Droge dreimal 6 Stunden lang mit jeweils 8 l Benzol ausgezogen. Die vereinigten Benzolextrakte wurden unter vermindertem Druck auf ein Volumen von 500 ml eingengt. Portionen zu 50 ml konzentrierten Extrakts wurden in der Verteilungsbatterie zur multiplikativen Verteilung nach HECKER jeweils einem vierstufigen Grundprozeß einer CRAIG - Verteilung im System Benzol - Natronlauge (5 %), Verhältnis 1 : 1 (v/v) unterworfen. Die gesammelten, dunkelbraun gefärbten natronalkalischen Ausschüttelungen wurden unter Kühlung mit 25 %iger Salzsäure angesäuert und die saure Phase fünfmal mit je 800 ml Essigester ausgeschüttelt. Die Essigesterlösung wurde zur Entfernung der Salzsäure mehrmals mit kleinen Portionen Wasser ausgeschüttelt, dann über Natriumsulfat getrocknet und anschließend unter vermindertem Druck zur Trockene eingengt.

Der dunkelbraune Rückstand (3 g) wurde durch Säulenchromatographie an Kieselgel weiter aufgetrennt. Dazu wurde eine Säule in folgender Weise bereitet: Ein Chromatographierohr (Durchmesser 3,5 cm) wurde mit einer Kieselgelanschlämmung (100 g Kieselgel "Merck", Korngröße 0,05 - 0,2 mm) in Benzol beschickt. Die Schichthöhe betrug nach dem Absitzen 25 cm. Der Ausschüttelungsrückstand wurde in 10 ml Benzol gelöst und auf die Säule aufgetragen. Entwickelt und eluiert wurde mit Benzol, dem in steigender Konzentration Essigester bis zu einem Verhältnis 7 : 3 (v/v) zugesetzt wurde. Das Eluat wurde in Fraktionen zu 50 ml aufgefangen und dc geprüft (Kieselgel G "Merck", Fließmittel: Benzol - Essigester =

70:30; Polyamid "Merck", Fließmittel: Methanol - Formamid - Wasser 60:30:15). Elutionsverlauf: Durch Benzol konnten mit der Fließmittelfront laufende Substanzen abgetrennt werden (Vorlauf: Benzol, 700 ml). Mit steigendem Essig-esteranteil des Laufmittels wurden zunächst Cumarine, dann Gemische von Cumarinen und F_K eluiert und schließlich fast reines F_K gewonnen. Die nach dünnschichtchromatographischer Prüfung einheitlichen Fraktionen (500 ml) wurden vereinigt. Nach dem Verdampfen des Lösungsmittels hinterblieb eine hellgelbe, nichtkristalline Masse, die in wenig Benzol aufgenommen wurde. Aus der Benzollösung fiel nach mehrtägigem Stehen bei 4° F_K aus. Durch wiederholtes Umkristallisieren aus Benzol - Petroläther erhielt ich F_K in feinen, hellgelben Nadeln vom Schmelzpunkt 183 - 184°. Aus 1 kg Kamillenblüten konnte ich 60 mg F_K gewinnen.

Elementaranalyse:

Berechnet für $C_{19}H_{18}O_8$ (374,3):

	C	60,96,	H	4.85	OCH_3	33,17
Gefunden	C	61,66,	H	4.92	OCH_3	32,12

UV - Spektrum:

λ_{max} :	258,	271,	352	nm
ϵ_{max} :	17 800,	16 200,	22 400	$1 \text{ Mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$
$\log \epsilon_{max}$:	4.25,	4.21,	4.35	

$$c = 1,16 \cdot 10^{-2} \text{ g l}^{-1} = 3,1 \cdot 10^{-5} \text{ Mol l}^{-1} \text{ in Methanol}$$

2.1.1 Einige Reaktionen von F_K :

- Die methanolische Lösung von F_K färbt sich nach Zusatz von Magnesiumpulver und konz. Salzsäure orange.
- Mit Eisen (III) - chlorid (1 %ige Lösung in Methanol) färbt sich F_K grün - schwarz.

- c. Ein F_K -Fleck auf Papier gibt mit Diphenylborsäure-amino-äthylester-Komplex (1 %ige Lösung in Methanol) eine im Tageslicht gelb gefärbte Verbindung. Im langwelligen UV - Licht fluoresziert der besprühte Fleck gelb-braun.
- d. F_K löst sich in konzentrierter Schwefelsäure mit leuchtend gelber, in konzentrierter Salzsäure mit hellgelber Farbe.

2.1.2 Abschätzung des Gehalts der Droge an F_K :

20,0 g Flores Chamomillae wurden im Soxhlet zunächst mit 300 ml Petroläther (Kp 40 - 60°) 4 Stunden lang vorextrahiert, darauf dreimal 6 Stunden lang mit jeweils 300 ml Benzol erschöpfend ausgezogen. Die vereinigten Benzolextrakte wurden auf 5 ml eingeeengt, quantitativ in einen Meßkolben überführt und auf 10 ml aufgefüllt (Standardextrakt E). Dann wurden 1,2 mg F_K in einem Meßkolben in 5 ml Benzol gelöst (Vergleichslösung V). Auf 2 mit Polyamid/Zellulose beschichtete Platten wurden in regelmäßigen Abständen je dreimal 5 μ l E (entsprechend 0,01 g Flores Chamomillae), dazwischen in steigender Menge die Vergleichslösung V (1 μ l, 2 μ l... bis 20 μ l entsprechend 0,24 bis 4,8 μ g F_K) aufgetragen. Die Chromatogramme wurden mit dem Fließmittel Methanol/Formamid/Wasser = 60:30:15 entwickelt (Fronthöhe 15 cm), danach 45 Minuten lang bei 100° getrocknet und anschließend mit einer 1 %igen Lösung von Diphenylborsäure-aminoäthylester-Komplex in Methanol besprüht. Nach dem Trocknen wurden die Chromatogramme im langwelligen UV - Licht betrachtet und ausgewertet (F_K erscheint als gelb-brauner Fleck): Die aufgetragenen Mengen der Vergleichslösung V in den Grenzen von 7 - 10 μ l zeigten, verglichen mit E, Übereinstimmung hinsichtlich R_f - Wert, Farbintensität und Fleckdurchmesser der F_K - Flecke, d. h., daß der F_K - Gehalt von 5 μ l Standardextrakt E zwischen 1,68 und 2,4 μ g liegt. Im Mittel läßt sich danach für 100 g Kamillenblüten ein F_K - Gehalt von etwa 20 mg errechnen.

2.2 Identifizierung der Verbindung F_K

2.2.1 Alkalispaltung:

5 mg F_K wurden in 5 ml 20 %iger äthanolischer Kalilauge gelöst und vier Stunden lang unter Stickstoff am Rückfluß gekocht. Dann wurde ein Teil des Alkohols bei fortgesetzter Stickstoffeinleitung abdestilliert, der Rest mit 15 ml Wasser verdünnt. Die wäßrige Lösung wurde mit 2n - Schwefelsäure angesäuert und fünfmal mit je 5 ml Äther ausgeschüttelt. Die vereinigten Ätherphasen wurden durch Ausschütteln mit kleinen Portionen Wasser von der Schwefelsäure befreit, mit Natriumsulfat getrocknet, auf 2 ml eingengt und chromatographiert (Systeme und R_f - Werte s. Tab. 10). Eins der Spaltprodukte konnte eindeutig als Vanillinsäure identifiziert werden.

Tabelle 10:

Chromatographischer Vergleich des sauren Reaktionsprodukts beim Alkaliabbau von F_K mit einigen Phenolcarbonsäuren

Substanz	DC (Kieselgel G)		PC	Farbe m. GIBBS-R.	
	Rf - W. im Laufmittel				
	I	II	III		IV
Spaltprodukt	0,58	0,45	0,40	0,51	violett
Vanillinsäure	0,58	0,45	0,40	0,51	violett
Isovanillinsäure	0,50	0,39	0,31	0,57	blau
Protocatechusäure	0,63	0,25	-	0,30	hellbraun
Veratrumsäure	0,47	0,51	0,35	-	farblos

Fließmittel:

- I : Essigester-Isopropanol-Wasser = 65:24:1
- II : Benzol-Dioxan-Essigsäure = 90:25:4
- III : Di-nButyläther (wasserges.)-Essigsäure = 90:9
- IV : Äthanol-Ammoniaklösung (konz.)-Wasser = 80:4:16

Farbreaktion: Die Chromatogramme wurden mit einer 0,1 %igen Lösung von 2.6 - Dichlorchinonchlorimid in absolutem Äthanol besprüht und nach dem Trocknen mit Ammoniakdämpfen behandelt.

2.2.2 Methylierung:

2,14 g N - (Tolysulfonyl-4-)-N-methyl-nitrosamid wurden in 30 ml wasserfreiem Äther gelöst. Zur eisgekühlten Lösung wurden 10 ml 4 %iger methanolischer Kalilauge langsam hinzugegeben. Nach 5 Minuten wurde die ätherische Diazomethanlösung auf dem Wasserbad in eine mit 25 ml Aceton gefüllte eisgekühlte Vorlage überdestilliert. 25 ml der Diazomethanlösung wurden nun zu einer Lösung von 5 mg F_K in 5 ml wasserfreiem Aceton gegeben. Die Reaktionsmischung wurde 2 Tage lang bei -4° aufbewahrt. Danach wurde das Lösungsmittel abdestilliert, das gelb-braune Reaktionsprodukt in 1 ml Essigester gelöst und chromatographisch geprüft (s. Tab. 11). Es zeigte sich, daß zwei Methylierungsprodukte entstanden waren: durch Vergleich mit authentischen Substanzen wurde das eine als Artemetin (5 - Hydroxy - 3.3'.4'.6.7-pentamethoxyflavon), das andere als 3.3'.4'.5.6.7-Hexamethoxyflavon) identifiziert. Wegen der geringen Ausgangsmenge war die präparative Trennung beider Flavone nicht möglich.

Tabelle 11:

Chromatographischer Vergleich der Methylierungsprodukte von F_K (F_{Kme} und F_{Kme2}) mit Artemetin (A) und Hexamethylquercetagetin (HQ)

System	Rf - Werte				
	F_{Kme}	A	F_{Kme2}	HQ	F_K
I	0,63	0,63	0,75	0,75	0,58
II	0,50	0,50	0,67	0,67	0,40
III	0,57	0,57	0,26	0,26	0,42
IV	0,36	0,36	0,26	0,26	0,05

Systeme:

- | | | | | |
|-----|---|--------------------------|---|---------------------------|
| I | : | DC - Polyamid/Zellulose | - | Methanol/Benzol/Wasser |
| | | | = | 60 : 30 : 10 |
| II | : | DC - Polyamid/Zellulose | - | Methanol/Formamid/Wasser |
| | | | = | 60 : 30 : 15 |
| III | : | DC - Kieselgel G | - | Benzol/Essigester |
| | | | = | 70 : 30 |
| IV | : | PC (formamidimprägniert) | - | Hexan/Chloroform/Formamid |
| | | | = | 85 : 15 : 10 (Oberphase) |

2.2.3 Acetylierung:

10 mg F_K wurden in 1 ml Pyridin gelöst, die eisgekühlte Lösung mit 1 ml Acetanhydrid versetzt und 24 Stunden lang bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Danach wurde das Reaktionsgemisch in 10 ml Eiswasser gegossen. Der Niederschlag wurde nach 3 Stunden abgesaugt und mit Eiswasser gewaschen. Nach dreimaligem Umkristallisieren aus Methanol erhielt ich 7 mg des F_K - Diacetats in farblosen Kristallnadeln vom Schmelzpunkt 196 - 197°.

2.2.4 Synthese des 4'.5-Dihydroxy-3.3'.6.7-tetramethoxyflavons

2 - Hydroxy - 4.6 - dimethoxyacetophenon (I)

11,3 g Phloracetophenon wurden mit 16,95 g Dimethylsulfat (2 Mol) in wasserfreiem Aceton bei Anwesenheit von 40 g geglühtem Kaliumcarbonat 7 Stunden lang am Rückfluß gekocht. Nach Beendigung der Reaktion wurde die Acetonlösung vom Kaliumcarbonat abfiltriert und unter vermindertem Druck auf dem Wasserbad zur Trockene eingeengt. Zur Reinigung von weniger methylierten Produkten wurde der hellgelbe Rückstand in 250 ml Äther aufgenommen. Die Ätherphase wurde nun fünfmal mit je 2 ml n-Sodalösung ausgeschüttelt, dann wurde das Reaktionsprodukt in n-Natronlauge (fünfmal je 50 ml) überführt. Durch Ansäuern mit verdünnter Salzsäure wurde das 4.6-Dimethylphloracetophenon ausgefällt, dann abgesaugt und mit Wasser gewaschen. Nach mehrfachem Umkristallisieren aus

Methanol/Wasser erhielt ich 8,5 g (65 %) silbrig glänzender Kristallblättchen vom Schmelzpunkt 81° (Lit. SASTRI, 1947, 82 - 83°).

2.5-Dihydroxy-4.6-dimethoxyacetophenon (II)

Zu einer natronalkalischen Lösung (20,0 g NaOH in 200 ml Wasser) von 15,0 g I wurden im Verlauf von 2 Stunden 22,0 g $K_2S_2O_8$, gelöst in 400 ml Wasser, unter Rühren tropfenweise hinzugegeben. (Temperatur $15 - 20^{\circ}$). Das Reaktionsgemisch wurde 24 Stunden lang stehen gelassen, danach mit konzentrierter Salzsäure (Lackmusumschlag) angesäuert. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert. Das Filtrat wurde mit 5,0 g Na_2SO_3 und 10,0 g Kohle versetzt, gut durchgeschüttelt und abermals filtriert. Nach Zugabe von 150 ml konzentrierter Salzsäure wurde das Filtrat im Wasserbad auf 100° erhitzt. Nach etwa 15 Minuten war eine größere Menge gelber Kristalle ausgefallen. Diese wurden abgesaugt, mit wenig Wasser gewaschen und zweimal aus Aceton/Wasser umkristallisiert. Ich erhielt 3,0 g hellgelber, rhombenförmiger Kristalle vom Schmelzpunkt 165° (Lit. SASTRI, 1947, 164 - 165°). Aus der Mutterlauge konnten bei nochmaligem Erhitzen auf 100° weitere 0,5 g II gewonnen werden. Ausbeute insgesamt: 3,5 g (22 %).

2-Hydroxy-4.5.6-trimethoxyacetophenon (III)

25,0 g II wurden in 400 ml wasserfreiem Aceton bei Anwesenheit von 60,0 g Kaliumcarbonat (wasserfrei) mit 15,0 g Dimethylsulfat durch zwölfstündiges Kochen am Rückfluß methyliert. Nach Verdampfen des Acetons verblieb als Rückstand ein dunkelbraunes, dickflüssiges Öl. Dieses Öl wurde unter vermindertem Druck (25 - 30 Torr) fraktioniert destilliert. Die Fraktionen, die zwischen 184 und 186° übergingen, wurden aufgefangen. Ausbeute: 14,0 g eines hellgelben Öls (53 %).

Vanillinbenzyläther (IV)

69,0 g Vanillin-Na wurden in 500 ml Aethanol suspendiert und nach Zugabe von 75,0 g Benzylchlorid 12 Stunden lang am Rückfluß im Sieden erhalten. Nach Entfernen des Alkohols wurde der Benzylchloridüberschuß durch Wasserdampfdestillation entfernt. Aus der zurückbleibenden öligen Flüssigkeit entstand nach 12stündigem Stehen im Eisschrank eine feste, braune Masse, aus der nach achtmaligem Umkristallisieren aus Methanol/Wasser 61,0 g (64 %) farbloser Kristallblättchen vom Schmelzpunkt 63° (Lit. DICKINSON, 1927, 64 - 65°) gewonnen werden konnten.

6'.-Hydroxy-2'.3'.3.4'-tetramethoxy-4-benzyloxychalkon (V)

Zu einer Lösung von 12,0 g III in 50 ml Aethanol wurde eine Suspension von 19,0 g IV in 50 ml Aethanol gegeben. In diese Mischung wurden vorsichtig unter Eiskühlung 175 ml 60 %iger Kalilauge eingetragen. Nach 14stündigem Schütteln wurde das Reaktionsgemisch in einen Scheidetrichter überführt und die überschüssige Lauge von der dunkelrot gefärbten Aethanolphase abgetrennt. Die Aethanollösung wurde mit 100 ml Eiswasser verdünnt. Nach Ansäuern mit 20 %iger Salzsäure entstand ein orangefarbener Niederschlag, der abgesaugt und mit 5 %iger Natriumhydrogencarbonatlösung und Wasser gewaschen wurde. Nach mehrfachem Umkristallisieren aus Aceton/Wasser entstanden orangefarbene, derbe Kristallnadeln vom Schmelzpunkt 160 - 160,5°. Die Ausbeute betrug 11,0 g (46 %).

Elementaranalyse:

$C_{26}H_{26}O_7$ (450,5)

Gef.: C 69,44 H 5,98

Ber.: C 69,32 H 5,82

UV - Spektrum:

$\lambda_{\max}$: 376 nm

$\epsilon_{\max}$: 26 600 $1 \text{ Mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

$\lg \epsilon_{\max}$: 4,42

$c = 1,0 \cdot 10^{-2} \text{ g} \cdot 1^{-1} = 2,22 \cdot 10^{-5} \text{ Mol } 1^{-1} \text{ in Methanol}$

3-Hydroxy-3'.5.6.7-tetramethoxy-4'-benzyloxyflavon (VI)

Zu einer siedenden aethanolischen Lösung des Chalkons V (0,9 g in 150 ml) wurden 1,2 g Natriumperoxyd gegeben und die Lösung noch 8 Minuten lang im Sieden gehalten. Nach Zugabe von 200,0 g Eis wurde mit konzentrierter Salzsäure angesäuert. Die wässrig-aethanolische Lösung wurde dann dreimal mit je 50 ml Benzol extrahiert, die vereinigten Benzolphasen mit 5 %iger wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung und Wasser gewaschen. Das Benzol wurde getrocknet und unter vermindertem Druck abdestilliert. Der rote Rückstand wurde mehrmals mit kleinen Portionen Aceton behandelt, das Aceton von der verbleibenden kristallinen, hellgelben Masse abdekantiert. Durch Umkristallisieren aus Methanol wurden schließlich 0,093 g hellgelber, nadelförmiger Kristalle gewonnen (10 %). Schmelzpunkt 205 - 206°.

Elementaranalyse:

$\text{C}_{26}\text{H}_{24}\text{O}_8$ (464,5)

Gef.: C 67,11 H 5,45

Ber.: C 67,24 H 5,21

UV - Spektrum:

$\lambda_{\max}$: 254, 358 nm

$\epsilon_{\max}$: 21 800, 23 200 $1 \text{ Mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

$\lg \epsilon_{\max}$: 4,34; 4,37

$c = 1,5 \cdot 10^{-2} \text{ g} \cdot 1^{-1} = 3,23 \cdot 10^{-5} \text{ Mol } 1^{-1} \text{ in Methanol}$

3.3'.5.6.7-Pentamethoxy-4'-benzyloxyflavon (VII)

0,8 g des Flavonols VI wurden mit 0,4 g Dimethylsulfat und 5,0 g wasserfreiem Kaliumcarbonat in 150 ml wasserfreiem Aceton 12 Stunden lang am Rückfluß gekocht. Danach wurde die acetonige Lösung vom Kaliumcarbonat abfiltriert und das Aceton verdampft. Der zähflüssige, bräunlich gefärbte Rückstand wurde in 150 ml Benzol aufgenommen, die Benzollösung dreimal mit je 30 ml 3 %iger Natronlauge, darauf mit wenig Wasser ausgeschüttelt. Die Benzollösung wurde auf ein kleines Volumen eingeeengt und bis zur beginnenden Trübung mit Petroläther versetzt. Nach zwölfstündigem Stehen im Eisschrank konnten die noch leicht verfärbten Kristalle abgesaugt werden. Durch mehrfaches Umkristallisieren wurden farblose Kristallnadeln gewonnen. Ausbeute: 0,6 g (73 %). Schmelzpunkt: 135 - 136°.

Elementaranalyse:

$C_{27}H_{26}O_8$ (478,5)

Gef.: C 67,76 H 5,73

Ber.: C 67,77 H 5,48

UV - Spektrum:

$\lambda_{\max}$:	243	335 nm
$\epsilon_{\max}$:	22 900,	27 100 1 Mol ⁻¹ cm ⁻¹
lg $\epsilon_{\max}$:	4.36	4.43

$c = 1,16 \cdot 10^{-2} \text{ g} \cdot \text{l}^{-1} = 2,42 \cdot 10^{-5} \text{ Mol}^{-1} \text{ in Methanol}$

4'-Hydroxy-3.3'.5.6.7-pentamethoxyflavon (VIII)

0,56 g VII wurden in 300 ml Aethanol gelöst und eine Stunde lang mit 0,3 g 10 %iger Palladiumkohle als Katalysator hydriert. Danach wurde vom Katalysator abfiltriert, der Alko-

hol und das Toluol verdampft. Der Rückstand wurde zunächst aus Äther kristallisiert. Nach mehrfachem Umkristallisieren aus Methanol wurden 0,28 g (62 %) farbloser, prismenförmiger Kristalle gewonnen. Schmelzpunkt: 152 - 153°.

Elementaranalyse:

$C_{20}H_{20}O_8$ (388,4)

Gef.: C 62,08 H 5,16

Ber.: C 61,85 H 5,19

UV - Spektrum:

$\lambda_{\max}$: 240, 338 nm

$\epsilon_{\max}$: 19 500, 24 000 $1 \text{ Mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

$\lg \epsilon_{\max}$: 4.29 4.38

$c = 6,8 \cdot 10^{-3} \text{ g l}^{-1} = 1,75 \cdot 10^{-5} \text{ Mol l}^{-1}$ in Methanol

4'.5-Dihydroxy-3.3'.6.7-tetramethoxyflavon (IX)

In 30 ml wasserfreiem Äther wurden unter Kühlung 6 g wasserfreies Aluminiumchlorid gelöst. Zu dieser Lösung wurden 0,26 g VIII gegeben. Das Gemisch wurde unter Feuchtigkeitsausschluß fünf Stunden lang bei Zimmertemperatur gerührt. Danach wurde der Äther unter vermindertem Druck (20 Torr) ohne Erhitzen abdestilliert und zum Reaktionsgemisch vorsichtig 50 ml Eiswasser und 15 ml konzentrierter Salzsäure gegeben. Der dabei entstehende kristalline Niederschlag wurde abgesaugt, mit Wasser gewaschen und mehrmals aus Methanol umkristallisiert. Ausbeute: 0,15 g hellgelber Nadeln (60 %) vom Schmelzpunkt 183 - 184°. Mischschmelzpunkt mit F_K 183 - 184°.

Elementaranalyse:

$C_{19}H_{18}O_8$ (374,3)

Gef.:	C	61,03	H	4,97	OCH ₃	32,72
Ber.:	C	60,96	H	4,85	OCH ₃	33,17

UV - Spektrum:

$\lambda_{\max}$:	258,	271,	352 nm
$\epsilon_{\max}$:	17 800,	16 200,	22 300 Mol ⁻¹ cm ⁻¹
lg $\epsilon_{\max}$:	4.25,	4.21	4.35

$c = 1,44 \cdot 10^{-2} \text{ g l}^{-1} = 3,85 \cdot 10^{-5} \text{ Mol l}^{-1} \text{ in Methanol}$

2.2.4.1 Methylierung von IX:

5 mg des Syntheseprodukts IX wurden, wie auf Seite 78 angegeben, methyliert. Die dabei entstandenen Verbindungen erwiesen sich bei der Prüfung mit den F_K-Methylierungsprodukten, also mit Artemetin und Hexamethylquercetagenin als identisch (Systeme wie auf Seite 79).

2.2.4.2 Acetylierung von IX:

10 mg des Syntheseprodukts IX wurden acetyliert (Seite 79). Ich erhielt 7 mg farbloser Kristallnadeln vom Schmelzpunkt 196 - 197°.

Mischschmelzpunkt der Diacetate von F_K und IX: 195 - 196°.

UV - Spektrum des Diacetats von IX:

$\lambda_{\max}$:	240,	320 nm
$\epsilon_{\max}$:	21 900,	24 500 Mol ⁻¹ cm ⁻¹
lg $\epsilon_{\max}$:	4.34	4.39

$c = 1,8 \cdot 10^{-2} \text{ g l}^{-1} = 3,67 \cdot 10^{-5} \text{ Mol l}^{-1} \text{ in Methanol}$

2.3 Untersuchung einzelner Teile von *Matricaria chamomilla*:

Die kompletten Exemplare von *Matricaria chamomilla* (Herkunft: Botanischer Garten, Berlin) wurden in die Grundorgane zerlegt, die Pflanzenteile getrocknet und grob gepulvert:

Wurzel	1 g
Stengel und Blätter	5 g
Blütenboden	1,5 g
Röhrenblüten	5 g
Randblüten	5 g

Die Pulver wurden in Soxhletapparaturen zunächst mit jeweils 200 ml Petroläther 4 Stunden lang vorextrahiert, dann 6 Stunden lang mit jeweils 200 ml Benzol und schließlich 6 Stunden lang mit jeweils 200 ml Aceton ausgezogen. Die Extrakte wurden auf etwa 2 ml eingeeengt und dünn-schichtchromatographisch untersucht:

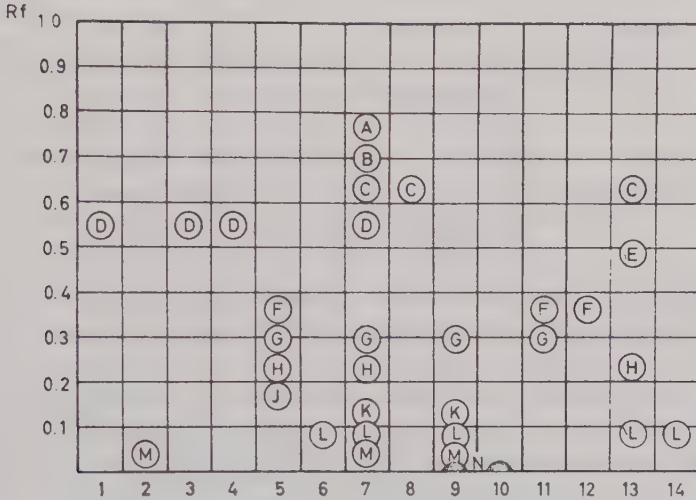
DC an Polyamidschichten, Fließmittel: Methanol-Formamid-Wasser = 60 : 30 : 15. Pro Startfleck wurden 1 bis 2 μ l Extrakt aufgetragen.

Sprühreaktion: 1 %ige Lösung von Diphenylborsäure-amino-äthylester-Komplex in Methanol.

Die Ergebnisse der chromatographischen Prüfung sind in einem Chromatogrammschema zusammengestellt (Abb. 16, Tab. 12).

Abbildung 16:

Chromatogrammschema der Benzol- und Acetonextrakte von Pflanzenteilen der *Matricaria chamomilla* und einiger Vergleichssubstanzen



- 1 = Acetonextrakt - Stengel und Blätter
- 2 = Luteolin
- 3 = Acetonextrakt - Blütenboden
- 4 = Luteolin-7-glucosid
- 5 = Benzolextrakt - Röhrenblüten
- 6 = Apigenin
- 7 = Acetonextrakt - Röhrenblüten
- 8 = Apigenin-7-glucosid
- 9 = Acetonextrakt - Röhrenblüten (Hydrolyse)
- 10 = Quercetin
- 11 = Benzolextrakt - Randblüten
- 12 = F_K
- 13 = Acetonextrakt - Randblüten
- 14 = Acetonextrakt - Randblüten (Hydrolyse)

Tabelle 12:

Farbreaktion der auf dem Chromatogramm sichtbaren Flavone mit dem Sprühreagenz (Färbung im langwelligen UV - Licht)

Substanzfleck	Verbindung	Farbe
A	unbekanntes Glykosid	hellrot
B	unbekanntes Glykosid	orange
C	Apigenin-7-glucosid	grün
D	Luteolin-7-glucosid	gelb
E	unbekannt	grün
F	F _K	gelb-braun
G	unbekannt	orange
H	unbekannt	grün
J	unbekannt	grün
K	unbekannt	orange
L	Apigenin	grün
M	Luteolin	gelb
N	Quercetin	orange

2.4 Untersuchung von Flores Chamomillae verschiedener Herkunft auf das Vorkommen von F_K

Die Drogenmuster wurden von der Firma Herbata, Berlin bezogen.

Je 20 g von in Deutschland, Polen, Jugoslawien, Ungarn, Griechenland und Ägypten geernteten Flores Chamomillae wurden im Soxhlet 3 Stunden lang mit je 200 ml Petroläther vorextrahiert und darauf 7 Stunden lang mit jeweils 250 ml Benzol ausgezogen. Die Benzolextrakte wurden auf je 10 ml eingeengt. Je 5 ml der Benzolextrakte wurden, wie bei der Isolierung von F_K angegeben mit Natronlauge ausgeschüttelt und die sauren Bestandteile nach Neutralisierung der alkalischen Phase mit Essigester extrahiert.

In den Benzolextrakten, ebenso in den Essigesterfraktionen aller Drogenmuster konnte F_K chromatographisch eindeutig nachgewiesen werden.

DC an Polyamid:

Fließmittel: Methanol-Formamid-Wasser = 60 : 30 : 15

Methanol-Benzol-Wasser = 60 : 30 : 10

Sprühreagenz: 1 %ige Lösung von Diphenylborsäure-amino-äthylester-Komplex in Methanol

2.5 Untersuchung verwandter Arten auf das Vorkommen von F_K

Die untersuchten Pflanzen wurden im Herbst 1966 gesammelt.

Herkunft:

Matricaria inodora	}	Botanischer Garten, Berlin
Anthemis nobilis		

Matricaria discoidea - Straßenrand Berlin-Schöneberg

Anthemis nobilis flore pleno - Firma Caesar und Loretz,
Auslieferungslager Berlin

Die Blütenstände der zu untersuchenden Pflanzen wurden getrocknet und grob gepulvert. Je 6 g der Drogenpulver wurden wie unter 2.4 angegeben mit Petroläther und Benzol ausgezogen. Die Extrakte wurden auf etwa 2 ml eingeeengt. Zur DC an Polyamidschichten wurden jeweils 2 μ l aufgetragen. Fließmittel und Sprühreagenz wie auf Seite 89 angegeben.

In keiner der geprüften Arten ist F_K nachzuweisen.

VI. Diskussion

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit haben unsere Annahme bestätigt, daß lipophile Flavonoide gemeinsam mit den ätherischen Ölen in die Exkretbehälter der Citrusfrüchte ausgeschieden werden. Wenn man diese Befunde verallgemeinert, muß man annehmen, daß ein funktionaler Zusammenhang und damit eine strenge Korrelation zwischen dem Vorkommen lipophiler Flavone und dem Vorhandensein von Exkretbehältern besteht. Die strenge Korrelation steht im Einklang mit allen bisherigen Literaturangaben über das Vorkommen lipophiler Flavone (s. Tab. 1, S. 35).

Gleichzeitig haben die Ergebnisse jedoch gezeigt, daß diese Beziehung nicht umkehrbar ist, d. h., daß Pflanzen, die Exkretbehälter besitzen, nicht auch notwendigerweise lipophile Flavone führen müssen, selbst wenn diese Stoffgruppe in der Pflanze vertreten ist. Citrus limon beispielsweise enthält im Gegensatz zu den anderen untersuchten Citrusarten keine lipophilen Flavone. Alle bisher aus der Zitrone bekannten Flavone liegen als Glykoside vor (HOROWITZ, 1957, 1961; GENTILI, 1964). Ebenso wenig konnten in *Matricaria inodora*, *Matricaria discoidea* und *Anthemis nobilis*, die alle ätherisches Öl führen, lipophile Flavone gefunden werden. Dieses Verhalten läßt sich mit der Annahme deuten, daß das Vorkommen methoxylierter Flavone der Ausdruck einer auffälligen "Methylierungsaktivität" der betreffenden Pflanzen ist. Die Isolierung eines lipophilen Flavons aus *Matricaria chamomilla* war somit eigentlich nicht vorhersehbar.

Zur chemotaxonomischen Wertigkeit lipophiler Flavone:

Nach dem bisher Gesagten ist klar, daß der chemotaxonomische Wert lipophiler Flavone gering ist, denn sie sind ja lediglich der chemische Ausdruck eines (korrelierten) mor-

phologischen Merkmals, das bereits zur taxonomischen Bestimmung herangezogen wurde (RIMPLER, 1964, 1965). Die chemotaxonomische Wertigkeit dieser Stoffe trifft jedoch nur im Hinblick auf ihre Lipophilität zu. Als besonderer Strukturtyp kann die chemische Verbindung durchaus für ein Taxon charakteristisch und damit für die Systematik brauchbar sein. Flavonoiden kommt als chemischen Ubiquitisten im Pflanzenreich allerdings nur geringe chemotaxonomische Bedeutung zu. Es existieren jedoch einige Flavone mit besonderem Hydroxylierungsmuster, die bisher nur in wenigen Pflanzen gefunden wurden. In diesem Falle können sie für die Chemotaxonomie von Interesse sein. Zu den selten auftretenden Flavonen gehören die in Citrusarten nachgewiesenen Flavone und auch Quercetagine (z. B. F_K in *Matricaria chamomilla*).

1. Citrus - Flavone

Im botanischen Teil der Arbeit wurden die Schwierigkeiten erwähnt, die bei der systematischen Abgrenzung vieler Citrusarten auftreten. Der Grund hierfür liegt in der schon seit Jahrtausenden währenden Kultivierung der Citrusgewächse, woraus zahlreiche Kulturrassen resultieren, deren systematische Stellung zueinander vielfach nicht mehr einwandfrei feststellbar ist. Interessant ist, daß die Citrusarten, die früher zur Spezies "*Citrus aurantium*" (hierzu wurden u. a. die von uns untersuchten *Citrus paradisi*, *Citrus sinensis*, *Citrus reticulata* gerechnet) zusammengefaßt wurden, große Einheitlichkeit hinsichtlich ihrer Flavonführung zeigen. Nobiletin, Tangeretin und 3.3'.4'.5.6.7.8-Heptamethoxyflavon waren durchgehend in den vier (einschließlich *Clementine*) untersuchten "*Citrus aurantium*" - Arten vorhanden.

Von diesen Arten unterscheidet sich sowohl morphologisch, als auch chemisch *Citrus limon*. Die chemischen Unterschiede

zwischen "Citrus aurantium" - Arten und Citrus limon bestehen, die Flavonführung betreffend, in folgendem:

- a. Die Flavone von Citrus limon weisen zum Teil völlig andere Substitutionsmuster auf.
- b. Permethylierte Flavone fehlen vollständig.

Andererseits enthalten alle untersuchten Citrusarten Flavone vom Substitutionstyp des Heptahydroxyflavons. Diese Verbindung wurde außerhalb der Gattung Citrus nicht gefunden und scheint für dieses Genus charakteristisch zu sein.

2. Quercetagetin und seine Derivate

Zu den selten auftretenden Flavonen gehört auch das Quercetagetin, das sich vom Quercetin durch eine zusätzliche OH - Gruppe am C-6-Atom des Chromongerüsts unterscheidet. Quercetagetin, bzw. seine Derivate, sind bisher in 22 Genera gefunden worden (s. Tab. 13).

Tabelle 13:

Die Verbreitung des Quercetagetins und seiner Derivate über das Pflanzenreich

Vorkommen von Quercetagetin und seinen Derivaten in den Familien		Zahl der Gattungen
Reihe: Rosales	Saxifragaceae	1
	Rosaceae	1
	Leguminosae	6
	Papaveraceae	1
	Rutaceae	1
	Chenopodiaceae	1
	Primulaceae	1
	Ericaceae	1
	Verbenaceae	1
	Compositae	8

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß Quercetagetinderivate bei einzelnen Gattungen verschiedener Pflanzenfamilien sporadisch auftreten. Wir entnehmen der Tabelle weiterhin, daß Quercetagetinderivate in zwei Verwandtschaftskreisen, den Rosales (in der Fassung von ENGLERS Syllabus, 1964) und den Compositae besonders häufig angetroffen werden. Da es keine Anhaltspunkte dafür gibt, daß gerade in diesen Taxa nach Quercetagetinen gesucht wurde, liegt der Schluß nahe, daß beide Taxa durch weite Verbreitung von Quercetagetinen ausgezeichnet sind. Für die Rosales können Quercetagetine neben den cyanogenen Verbindungen als Merkmal von chemotaxonomischem Interesse sein, weil sowohl Rosaceae und Saxifragaceae als auch Leguminosae Flavone dieses Typs aufbauen können. Durch dieses Merkmal wäre ein weiterer Hinweis dafür gegeben, daß die Stellung der genannten Familien in einer gemeinsamen Ordnung berechtigt ist.

Noch eine andere Verbreitungstendenz des Quercetagetins fällt auf: Während die gar nicht oder wenig methylierten Vertreter dieser Verbindung in mehreren Gattungen, oft ganz verschiedener Familien, zu finden sind (z. B. Patulitrin = 6-Methylquercetagetin-7glucosid in Tagetes - Arten, Compositae; Matricaria chamomilla, Compositae; Spinacia oleracea, Chenopodiaceae; Prosopis spicigera, Leguminosae), ist das Vorkommen höher methylierter Quercetagetine meist auf nur eine Gattung beschränkt. Innerhalb der Gattung wiederum ist das betreffende Derivat vielfach gleich in mehreren Arten vertreten. Casticin (3.4'.6.7-Tetramethylquercetagetin) beispielsweise ist in 3 Vitex - Arten nachgewiesen worden (RIMPLER, 1964) und Artemetin (3.3'.4'.6.7-Pentamethylquercetagetin) wurde aus Artemisia absinthium und Artemisia arborescens isoliert (CEKAN, 1956; MAZUR, 1955; TUNMANN, 1957). Diese Regelmäßigkeit

war für die Gattung *Matricaria* nicht nachzuweisen. Von den untersuchten *Matricaria* - Arten und der *Anthemis nobilis* enthielt nur *Matricaria chamomilla* das 3.3'.6.7-Tetramethylquercetagenin (F_K). Ob diese Verbindung nur auf die Art *Matricaria chamomilla* beschränkt ist, müssen Untersuchungen weiterer *Matricaria* - Spezies zeigen.

VIII. Zusammenfassung

Durch Entnahme von ätherischem Öl direkt aus den Exkretbehältern und anschließende Dünnschichtchromatographie wurde nachgewiesen, daß in den Früchten von vier der fünf untersuchten Citrusarten (*Citrus sinensis* (L.) OSBECK, *Citrus paradisi* MACF., *Citrus reticulata* BLANCO und *Citrus reticulata* - Hybride, Clementine) die lipophilen Flavone 3.3'.4'.5.6.7.8-Heptamethoxyflavon, Tangeretin und Nobiletin in den Exkretbehältern lokalisiert sind.

Hesperidin ist bei *Citrus sinensis* als Bestandteil des ätherischen Öls in den Exkretbehältern nicht nachzuweisen. Es kommt dagegen in allen übrigen Teilen der Frucht vor.

Die Früchte der fünften Art, *Citrus limon* (L.) BURM. enthalten keine lipophilen Flavone.

Aus *Matricaria chamomilla* L. wurde aus der sauren Fraktion des Benzolauszuges ein in der Natur bisher unbekanntes lipophiles Flavon, F_K , isoliert. Die Struktur dieser Verbindung wurde anhand analytischer Daten und durch Vergleich mit einem synthetisch gewonnenen Produkt bestimmt. F_K ist das 4'.5-Dihydroxy-3.3'.6.7-tetramethoxyflavon.

Das Polycladin, das aus einer anderen Composite, *Lepidophyllum quadrangulare*, isoliert wurde, und dem MARINI - BETTOLO (1957) ebenfalls die Konstitution eines 4'.5-Dihydroxy-3.3'.6.7-tetramethoxyflavons zuschrieb, weicht in entscheidenden physikalischen Konstanten von unserer Verbindung F_K ab. Die Konstitution dieses Flavons muß revidiert werden. Die glandulotrope Art der Exkretion von F_K

konnte wahrscheinlich gemacht werden. Es wurde die Verteilung der Flavone über die Organe von *Matricaria chamomilla* untersucht.

In Kamillen aus sechs verschiedenen Herkunftsländern war F_K durchgehend vorhanden.

F_K war nicht nachzuweisen in *Matricaria chamomilla* verwandten Arten wie *Matricaria inodora* L., *Matricaria discoidea* DC. und *Anthemis nobilis* (L.).

Anhand der Untersuchungsergebnisse und auf der Grundlage früherer Kenntnisse werden die Frage der Korrelation chemischer mit Strukturmerkmalen, sowie die taxonomische Wertigkeit chemischer Merkmale (speziell die von Flavonen) diskutiert.

Literaturverzeichnis

- ADRIAN, M. M. und TRILLAT, A.: Compt. rend. 127, 874 (1893)
- ALGAR, J. und FLYNN, J. P.: Proc. Roy. Irish Acad. 42, 1 (1934)
- BAKER, W.: J. Chem. Soc., 662 (1941)
- BAUER, K. H. und DIETRICH, H.: Chem. Ber. 66, 1053 (1933)
- BELLIC, I., BERGANT-DOLAR J. und R.A. MORTON: J. Chem. Soc.,
2523 (1961)
- BÖHME, H. und VÖLCKER P. E.: Arch. Pharm. 292, 529 (1959)
- BORN, R.: Chem. & Ind., 734 (1957)
- BORN, R.: Chem. & Ind., 264 (1960)
- BOSE, P. K. und NATH, R.: J. Ind. Chem. Soc. 15, 138 (1938)
- BOSE, P. K. und BOSE, J.: J. Ind. Chem. Soc. 16, 183 (1939)
- BRIGGS, L. H. und LOCKER, R. H.: J. Chem. Soc. 2157 (1949)
- BRIGGS, L. H. und LOCKER, R. H.: J. Chem. Soc. 2376 (1950)
- BROWN, R. F. C., GILHAM, P. T., HUGHES, G. K.
und RICHIE, E.: Austral. J. Chem. 7, 181 (1954)
- CEKAN, Z. und HEROUT, V.: Coll. czechosl. chem. Comm. 21, 79
(1956)
- CHALIHA, S. P., SASTRY, G. P. und RAO, P. R.: Tetrahedron, 21,
1441 (1965)
- CZAPEK, F.: Biochemie der Pflanzen, G. Fischer Verlag 1925,
Bd. III p. 220
- DICKINSON, R., HEILBRON, I. M. und IRVING, F.: J. Chem. Soc. 132,
1888 (1927)
- DREYER, D. L., TABATA, S. und HOROWITZ, R. M.: Tetrahedron, 20,
2977 (1964)
- DUNLAP, W. J. und WENDER, S. H.: Anal. Biochem. 4, 110 (1962)
- EGGER, K. und KEIL, M.: Z. anal. Chem. 210, 201 (1965)
- ERDTMAN, H.: Svensk kem. Tidskr. 56, 2 (1944)
- ESDORN, J.: Die Nutzpflanzen der Tropen und Subtropen in der
Weltwirtschaft, G. Fischer Verlag 1961, p. 90
- FARKAS, L., NOGRADI, M., SUDARSANAM V. und HERZ W.: J. Org. Chem.,
31, 3228 (1966)
- FREY-WYSSLING, A.: Die Stoffausscheidungen der höheren Pflanzen
Verl. von J. Springer, Berlin (1935)
- ENGLER, A. in ENGLER und PRANTL: Die natürlichen Pflanzenfamili-
en, Verlag von W. Engelmann, Leipzig 1931, Bd. 19 a,
p. 187 ff

- GENTILI, B. und HOROWITZ, R. M.: Tetrahedron 20, 2313 (1964)
- GOLDSWORTHY, L. J. und ROBISNON, R.: J. Chem. Soc. 46 (1937)
- GOLDSWORTHY, L. J. und ROBINSON, R.: J. Chem. Soc. 47 (1957)
- HÄNSEL, R.: Planta med. 10, 361 (1962)
- HÄNSEL, R., RIMPLER, H. und WALTHER, K.: Naturw. 53, 19 (1966)
- HÖRHAMMER, L., WAGNER, H. und SALFNER, B.: Arzneimittel.-Forsch.
13, 33 (1963)
- HÖRHAMMER, L., RÖSLER, H., GRAF, E. und FARKAS, L.: Chem. Ber.
97, 2857 (1964)
- HÖRHAMMER, L., WAGNER, H., GRAF, E. und FARKAS, L.: Chem. Ber.
98, 548 (1965)
- HOFFMANN, O.: Compositae, in ENGLER und PRANTL: Die natürlichen
Pflanzenfamilien IV, 5 (1894) p. 87
- HORIE, T., MASUMURA, M. und OKUMURA, S.: Bull. Chem. Soc. Japan
34, 1547 (1961)
- HORIE, T., SHIMOO, H., MASUMURA, M. und OKUMURA, S.: J. Chem.
Soc. Japan 83, 602 (1962)
- HOROWITZ, R. M.: J. Am. Chem. Soc. 79, 6561 (1957)
- HOROWITZ, R. M. und GENTILI, B.: J. Org. Chem. 25, 2183 (1960)
- HOROWITZ, R. M. und GENTILI, B.: J. Org. Chem. 26, 2899 (1961)
- ICHIKAWA, N. und YAMASHITA, T.: J. Chem. Soc. Japan 62, 1006 (1941)
- IRIARTE, J., KINCL, F. A., ROSENKRANZ, G. und SONDHEIMER, F.:
J. Chem. Soc. 4170 (1956)
- JEFFERIES, P. R., KNOX, J. R. und MIDDLETON, E. J.: Austral. J.
Chem. 15, 532 (1962)
- KIANG, A. K., SIM, K. Y. und GOH, J.: J. Chem. Soc. 6371 (1965)
- KING, F. E., KING, T. J. und SELLARS, K.: J. Chem. Soc. 92 (1952)
- KING, F. E., KING, T. J. und STOKES, P. J.: J. Chem. Soc. 4587
(1954)
- KISSER, J. G.: Ausscheidung von ätherischen Ölen und Harzen,
in: Handbuch der Pflanzenphysiologie, Hrsg.
W. RUHLAND, Bd. X, p. 91 - 131, Springer Verlag,
Berlin-Göttingen-Heidelberg (1958)
- KISSER, J.: Planta 2, 489 (1926)
- LANG, W. und SCHWANDT, K.: D. Apoth. Z. 97, 149 (1957)
- LEE, H. H. und TAN, C. H.: J. Chem. Soc. 2743 (1965)
- LEEMANN, A.: C. r. Soc. Phys. et Hist. nat. 43, 88 (1926)

- LEHMANN, C.: *Planta* 1, 343 (1925)
- MARINI-BETTOLO, G. B., CHIAVARELLI S. und CASINOVİ C. G.:
chim. itas., 87, 1185 (1957)
- MAZUR, Y. und MEISELS, A.: *Bull. Res. Coun. Isr.* 5A, 67 (1955)
- MEIER, W. und FÜRST, A.: *Helv. chim. Acta* 45, 232 (1962)
- MITTAL, O. P. und SESHADRI, T. R.: *J. Chem. Soc.* 2176 (1956)
- MONGKOLSUK, S., DEAN, F. M. und HOUGHTON, L. E.: *J. Chem. Soc.*
125 (1966)
- MOTHES, K.: *Naturwiss.*, 21, 571 (1965)
- NELSON, E. K.: *J. Am. Chem. Soc.* 56, 1392 (1934)
- OYAMADA, T.: *J. Chem. Soc. Japan* 55, 1256 (1934)
- PAECH, K.: *Biochemie und Physiologie der sekundären Pflanzenstoffe*, Springer Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg
(1950)
- POWER, F. B. und SALWAY, A. H.: *J. Am. Chem. Soc.* 30, 251 (1908)
- POWER, F. B. und BROWNING, H.: *J. Am. Chem. Soc.* 105, 2280 (1914)
- RANGASWAMI, S., RAO, J. V. und SESHADRI, T. R.: *Proc. Ind. Acad. Sci.* 16A, 319 (1942)
- RATNAGIRISWARAN, A. N., SEHRA, K. R. und VENKATARAMAN, K.:
Biochem. J. 28, 1964 (1934)
- REZNIK, H.: *Ergeb. Biolog.* 23, 14 (1960)
- RICHE, E., TAYLOR, W. C. und VAUTIN, S. T. K.: *ref.: C. A.* 64
11 161 (1966)
- RIGANESIS, M. D.: *Ess. deriv. agr.* 26, 107 (1956); *ref.: C. A.*
52, 8 462 (1958)
- RIMPLER, H.: *Zur taxonomischen Wertigkeit chemischer Merkmale: Flavonoide aus Vitex agnus castus L. und Helichrysum bracteatum (VENT.) WILDL., Diss., F. U. Berlin, 1964*
- RIMPLER, H.: *Planta med.* 13, 412 (1965)
- SARIN, P. S. und SESHADRI, T. R.: *Tetrahedron* 8, 64 (1960)
- SASTRI, V. D. N. und SESHADRI, T. R.: *Proc. Ind. Acad. Sci.*
23A, 262 (1946); *ref.: C. A.* 41, 449 (1947)
- SCHOLZ, H. in ENGLER, A.: *Syllabus der Pflanzenfamilien* (Hrsg. H. MELCHIOR), Verlag Gebr. Borntraeger, Berlin
1964, Bd. II, p. 262 ff
- SHINODA, J. und SATO, S.: *J. Pharm. Soc. Japan* 48, 109 (1928)

- SONDHEIMER, F. und MEISELS, A.: Tetrahedron 2, 139 (1960)
- SORM, F., CEKAN, Z., HEROUT, V. und RASKOVA, H.: Chem. Listy
46, 308 (1952)
- STOUT, G. H. und STOUT, V. F.: Tetrahedron 14, 296 (1961)
- SWIFT, L. J.: J. Org. Chem. 25, 2065 (1960)
- SWIFT, L. J.: J. Food Sci. 29, 766 (1964); ref.: C. A. 62,
5 809 (1965)
- SWIFT, L. J.: J. Agr. Food Chem. 13, 431 (1965); ref.: C. A.
63, 15 155 (1965)
- SWIFT, L. J.: J. Org. Chem. 30, 2079 (1965)
- TATUM, J. H., PARKS, G. L. und BERRY, R. E.: Citr. Ind. 46,
8 (1965); ref.:
C. A., 63, 12 233 (1965)
- TSENG, K. F.: J. Chem. Soc. 1003 (1938)
- TUNMANN, P. und ISAAK, O.: Arch. Pharm. 290, 37 (1957)
- TYIHAK, E., SÁRKÁNY-KISS I. und VERZÁR-PERI, G.: Die Pharm.
17, 301 (1962)
- VENTURELLA, P., BELLINO, A. und CUSMANO, S.: Ann. chim. (Rom),
51, 105 (1961)
- VENTURELLA, P., BELLINO, A. und CUSMANO, S.: Ann. chim. (Rom),
52, 795 (1962)
- WAGENITZ, G. in ENGLER, A.: Syllabus der Pflanzenfamilien (Hrsg.
H. MELCHIOR), Verlag Gebr. Borntrae-
ger, Berlin 1964, Bd.II, p. 478 ff
- WAGNER, Z. und KIRMAYER, W.: Naturw. 44, 307 (1957)

Lebenslauf

Ich wurde am 1. September 1936 in Berlin geboren. Meine Schulausbildung begann 1942 in Berlin. Ich besuchte nach 4jähriger Grundschulzeit die Oberschule in Berlin - Weißensee und legte hier im Jahre 1954 das Abitur, ein Jahr später eine Ergänzungsprüfung ab, nachdem ich ein 13. Schuljahr in Berlin - Reinickendorf absolviert hatte.

Vom Oktober 1955 bis März 1958 studierte ich an der Technischen Universität Berlin Betriebswirtschaft. Dieses Studium habe ich nicht beendet. Meine pharmazeutische Ausbildung begann im April 1958. Die zweijährige Praktikantenzeit in der Stern - Apotheke, Berlin - Charlottenburg schloß ich im März 1960 mit der pharmazeutischen Vorprüfung ab. Vom Sommersemester 1960 an studierte ich an der Freien Universität Berlin Pharmazie und bestand im April 1963 die Pharmazeutische Prüfung. Danach war ich bis Oktober 1963 als Kandidat der Pharmazie in der Drake - Apotheke, Berlin, tätig.

Seit November 1963 bin ich mit der vorliegenden Arbeit unter der Leitung von Herrn Professor Dr. R. Hänsel am Institut für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin beschäftigt.

Am gleichen Institut war ich vom November 1963 bis September 1966 als wissenschaftlicher Hilfsassistent und als wissenschaftlicher Tutor tätig. Seit Oktober 1966 bin ich mit der Wahrnehmung der Dienstgeschäfte eines wissenschaftlichen Assistenten beauftragt.

Die Approbation als Apotheker erhielt ich im Jahre 1964.

